

**Mechanismen des radialen Volumenflusses und der radialen
Permeation von Osmolyten in verzweigten Wurzeln junger
Maispflanzen (*Zea mays* L.) und halmbürtigen Adventivwurzeln
des Schilfes (*Phragmites australis* Trin. ex Steudel)**

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)
im Fach Biologie

eingereicht an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I der Humboldt-
Universität zu Berlin

von Diplombiologe Michael Fritz

Präsident der Humboldt-Universität zu Berlin

Prof. Dr. Jan-Hendrik Olbertz

Dekan der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I

Prof. Dr. Andreas Herrmann

Gutachter / Gutachterinnen:

Prof. Rudolf Ehwald

Prof. Thomas Buckhout

Prof. Wieland Fricke

Tag der mündlichen Prüfung: 03.05.2012

Für meine Familie.

It is our contention, however, as it is indeed that of most investigators, that we do want to know the details of the process of water [and solute] movement through the root not only for some kind of intellectual satisfaction but also as a framework to guide new experiments on water transport in the root. The overall process from some point in the soil to the solution moving up the xylem into the shoot is a flow driven by a force or set of forces which can be described, both as a whole and in each part of the pathway, by the equations of irreversible thermodynamics.

Dainty et al. (1981)

Danksagung

Zu allererst möchte ich Herrn Prof. Ehwald dafür danken, dass ich die Arbeiten zur vorliegenden Dissertation in der AG Zellbiologie durchführen konnte und dass er mir ein so interessantes Thema zur Bearbeitung vorgeschlagen hat. Ich möchte Herrn Ehwald weiterhin dafür danken, dass er mich in den vergangenen Jahren intensiv gefördert und gefordert hat und mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand.

In diesem Zusammenhang möchte ich auch Frau Ehwald für ihr Verständnis für unsere Arbeit, sowie die Sorge um unser leibliches Wohl danken.

Herzlicher Dank gilt der gesamten, leider aufgelösten Arbeitsgruppe Zellbiologie, in deren Mitte ich mich immer sehr wohl und heimisch gefühlt habe.

Meiner Familie danke ich für die immerwährende Unterstützung während der langen Zeit der Promotion. Ohne Euch wäre diese Promotion nicht entstanden.

Inhaltsverzeichnis

ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	IV
TABELLENVERZEICHNIS.....	VI
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	VII
ZUSAMMENFASSUNG.....	1
ABSTRACT.....	5
1 THEORETISCHER TEIL.....	9
1.1 PROBLEME DER KOPPLUNG ZWISCHEN DEM RADIALEN TRANSPORT DES WASSERS UND GELÖSTER SUBSTANZEN DURCH DIE LEBENDEN GEWEBE DER WURZEL.....	9
1.1.1 Die Bedeutung des extrafaskikulären Radialtransportes in den feinen Seitenwurzeln für die Wasserversorgung und Pflanzenernährung.....	9
1.1.2 Wege des radialen Wasser- und Volumenflusses durch die extrafaskikulären Wurzelgewebe.....	10
1.1.3 Die Hypothese eines apoplastischen hydraulischen Kurzschlusses im Parenchym des Kortex	14
1.1.4 Das <i>steady state</i> der osmotisch bedingten Xylemsaft- Exsudation.....	17
1.1.5 Der radiale Reflexionskoeffizient der Wurzel und Möglichkeiten zu seiner experimentellen Bestimmung.....	18
1.1.5.1 Physikalische Grundlagen.....	18
1.1.5.2 Die Bestimmung des radialen Wurzelreflexionskoeffizienten.....	22
1.1.6 Kinetische Probleme bei der Anwendung der Wurzeldrucksonde	26
1.2 RADIALTRANSPORT VON NaCl DURCH DIE FEINEN SEITENWURZELN VON SALZTOLERANTEN UND SALZEMPFLINDLICHEN PFLANZEN.....	33
1.3 SCHLUSSFOLGERUNGEN UND AUFGABEN FÜR DEN EXPERIMENTELLEN TEIL.....	38
2 EXPERIMENTELLER TEIL.....	42
2.1 MATERIAL UND METHODEN.....	42
2.1.1 Pflanzenmaterial.....	42
2.1.2 Morphometrie der feinen Seitenwurzeln von Schilf.....	44
2.1.3 Färbung der Wurzelquerschnitte.....	44
2.1.4 Präparation der abgetrennten Seitenwurzeln	45
2.1.5 Herstellung der gereinigten Suspension von Chinatusche-Mikropartikeln.....	45
2.1.6 Nachweis des axialen Volumenflusses der Xylemsaft-Exsudation an isolierten feinen Seitenwurzeln	45
2.1.7 Nachweis des axialen Einstromes des Evans Blau-Mediums in die Gefäße isolierter Seitenwurzeln	47
2.1.8 Median des osmotischen Druckes des Xylemsaftes in feinen Seitenwurzeln	47
2.1.9 Messung des Xylemsaftflusses mit Hilfe eines thermoelektrischen Fluss-Sensors und Beeinflussung des Volumenflusses durch osmotische und hydrostatische Druckänderungen	48
2.1.10 Numerische Beschreibung der Flusskinetik nach Applikation osmotischer oder hydrostatischer Druckgradienten	50
2.1.11 Visualisierung der Verletzungsstellen an intakten Wurzelsystemen von Mais.....	51

2.1.12	Diffusion von Säurefuchsin aus dem Medium in den Kortex der feinen Seitenwurzeln des Schilfes	51
2.1.13	Infiltration von lufthaltigen Interzellularräumen	51
2.1.14	Applikation von Luftdruck auf die Interzellularräume von Schilf- und Maiswurzelsystemen	52
2.1.15	Sammlung von Xylemsaft an der Schnittstelle der maternalen Wurzeln	52
2.1.16	Kontinuierliche Messung der elektrischen Leitfähigkeit des Xylemsaftes	53
2.1.17	Exposition der Maispflanzen in einem mannitolhaltigen Medium bei unterschiedlichen Transpirationsraten	53
2.1.18	Gewinnung von Presssäften, Korrektur der Verdünnung durch den Oberflächenfilm bei den Presssäften der Wurzeln	54
2.1.19	Sammlung von Xylemsaft aus Internodien des Schilfhalmes	54
2.1.20	Gaschromatographische Analyse der Alditole im Wurzelexsudat und im Presssaft.....	54
2.1.21	Bestimmung von Polyethylenglykolen.....	55
2.1.22	Chloridbestimmung	55
2.1.23	Bestimmung der Kationen	56
2.1.24	Bestimmung der Ausschlussgrenze der Tüpfelmembranen zwischen den Gefäßen der verzweigten Maiswurzel.....	56
2.1.25	Bestimmung des Volumenelastizitätsmodulus des Wurzelsystems von Maispflanzen	57
2.2	ERGEBNISSE	60
2.2.1	Ergebnisse zum radialen Volumen - und Teilchenfluss an verzweigten Maiswurzeln	60
2.2.1.1	Radiale Permeation von Säurefuchsin an verletzten und unverletzten Seitenwurzeln.....	60
2.2.1.2	Volumenflüsse durch isolierte feine Seitenwurzeln	61
2.2.1.3	Der Medianwert des osmotischen Druckes des Xylemsaftes in isolierten Seitenwurzeln	68
2.2.1.4	Einfluss von Glucose auf die Fähigkeit der isolierten Seitenwurzeln zur Abgabe von Xylemsaft	72
2.2.1.5	Stationäre Änderung des Xylemsaftflusses nach Änderung der radialen Wasserpotenzialdifferenz.....	73
2.2.1.6	Übergangskinetik des Xylemsaftflusses nach Veränderung der radialen Differenz des hydrostatischen Druckes	75
2.2.1.7	Übergangskinetik des Xylemsaftflusses nach Erhöhung des osmotischen Druckes im Medium.....	82
2.2.1.8	Wirkung der passiven radialen Permeation auf die osmotische Hemmung des Xylemsaftflusses...	85
2.2.1.9	Wirkung der Nitrationen auf den Volumenfluss	87
2.2.1.10	Permeation von Ionen und Nichtelektrolyten aus dem Medium in den Xylemsaft	90
2.2.1.11	Transport von Mannitol aus dem Wurzelmedium in den transpirierenden Spross	94
2.2.1.12	Konzentrationsänderungen der Elektrolyte im Xylemsaftes der Hauptwurzel	97
2.2.1.13	<i>Solvent drag</i> großer Polymermoleküle durch die Tüpfelmembranen zwischen den Xylemgefäßen des verzweigten Wurzelsystems	99
2.2.1.14	Elastische Volumenkapazität der Maiswurzelgewebe	100
2.2.2	Ergebnisse zum radialen Volumen- und Teilchenfluss an halmbürtigen Adventivwurzeln sowie zum Wasserhaushalt des Schilfes an einem Brackwasserstandort.....	102
2.2.2.1	Struktur der halmbürtigen Adventivwurzeln.....	102
2.2.2.2	Radiale Diffusion von Säurefuchsin durch die feinen Seitenwurzeln	108
2.2.2.3	Volumenfluss durch die isolierten Seitenwurzeln	109
2.2.2.4	Hydraulische Effizienz hoher Konzentrationen von PEG 600 und NaCl an intakten Adventivwurzeln.	114

2.2.2.5	Austauschdiffusion von Li^+ und Na^+	120
2.2.2.6	Konzentration von Natrium-, Kalium- und Chloridionen im Xylemsaft von exsudierenden Adventivwurzeln.....	121
2.2.2.7	Verdünnung des Xylemsaftes durch den hydrostatisch angetriebenen radialen Volumenfluss	122
2.2.2.8	Veränderungen des osmotischen Druckes und der Elektrolytkonzentration im aufsteigenden Xylemsaft der Halminternodien	123
2.2.2.9	Elektrolytkonzentrationen und osmotischer Druck im Presssaft der Wurzeln und der Sprossorgane.	124
3	DISKUSSION.....	125
3.1	RADIALTRANSPORT VON OSMOLYTEN UND WASSER IN ABGETRENNTEN SEITENWURZELN.....	125
3.2	MECHANISMUS OSMOTISCH BEDINGTER VOLUMENFLÜSSE IN DEN INFILTRIERTEN INTERZELLULARRÄUMEN DES KORTEX .	130
3.3	INTERPRETATION DES ZEITVERLAUFES DES RADIALEN VOLUMENFLUSSES NACH DER ÄNDERUNG DER RADIALEN WASSERPOTENZIALDIFFERENZ	132
3.4	UNGEFILTERTER VOLUMENFLÜSSE AN DER BASIS FEINER SEITENWURZELN.....	139
3.5	HYDRAULISCHE WIRKSAMKEIT DER OSMOTISCHEN UND HYDROSTATISCHEN KOMPONENTEN DER RADIALEN WASSERPOTENZIALDIFFERENZ AM UNVERLETZTEN KORTEX.....	140
3.6	BESTIMMUNG DER RADIALEN HYDRAULISCHEN LEITFÄHIGKEIT VERZWEIGTER WURZELN DURCH OSMOTISCHE BEEINFLUSSUNG DES VOLUMENFLUSSES	141
3.7	KINETIK DES VOLUMENFLUSSES NACH INDUKTION EINES RADIALEN TEILCHENFLUSSES AUF DEM SYMPLASTISCHEN WEG..	144
3.8	PERMEABILITÄT DES KORTEX FÜR DIE APOPLASTISCHE DIFFUSION	145
3.9	BESTIMMUNG DES REFLEXIONSKOEFFIZIENTEN PERMEABLER OSMOLYTE AUS IHRER VERDÜNNUNG IM XYLEMSAFT BEI DER STEIGERUNG DES VOLUMENFLUSSES	148
3.10	FEHLEN VON ECHTEM <i>SOLVENT DRAG</i> UND <i>PSEUDO SOLVENT DRAG</i> DURCH STRÖMUNGSBEDINGTE KONZENTRATIONSZUNAHME PERMEABLER OSMOLYTE IM KORTIKALEN APOPLASTEN	150
3.11	ÄNDERUNGEN DER KONZENTRATION DES EXSUDIERTEN XYLEMSAFTES UND IHRE BEDEUTUNG FÜR DIE INTERPRETATION VON RADIALEN VOLUMENFLÜSSEN UND WURZELDRUCKÄNDERUNGEN	153
3.12	DIE BEDEUTUNG DER RADIALEN SALZPERMEATION FÜR DIE SALZTOLERANZ DES SCHILFES	154
3.13	SCHLUSSFOLGERUNGEN IN THESENFORM	156
	LITERATURVERZEICHNIS.....	161
	VERÖFFENTLICHUNGEN	174

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anzuchtgefäß mit diffusiver Gasversorgung des Mediums.	43
Abbildung 2: Untersuchungskammer für die Beobachtung der Abgabe von Xylemsaft durch isolierte Feinwurzeln.	46
Abbildung 3: Applikation radialer hydrostatischer und osmotischer Druckdifferenzen.	49
Abbildung 4: Bestimmung des von der Wurzel in das Medium abgegebenen Volumens aus der Drehwinkelabnahme ($\Delta\alpha$) 10 min nach Erhöhung des osmotischen Druckes im Medium durch Zugabe von NaCl (a) und des in der gleichen Zeit in das Xylem einströmenden Volumens durch Integration der Flussänderung (b).	58
Abbildung 5: Permeation von Säurefuchsin aus der Stele in den Kortex von Maiswurzeln.	60
Abbildung 6: Visualisierung des axialen Volumenflusses in isolierten Feinwurzeln von hydroponisch angezogenen Maispflanzen mit Hilfe der Tuschemethode.	62
Abbildung 7: Osmotisch bedingter Einstrom des Evans Blau-Mediums in die Gefäße und Interzellularräume.	64
Abbildung 8: Relative Eindringtiefe der Evans Blau-Lösung in die Xylemgefäße in Abhängigkeit von verschiedenen Parametern.	67
Abbildung 9: Abhängigkeit des Anteils von Feinwurzeln mit gefärbtem Xylem vom osmotischen Druck der Evans Blau-Lösung.	68
Abbildung 10: Bestimmung des Medianwertes des osmotischen Druckes des Xylemsaftes der Seitenwurzeln von Mais mit der Evans Blau-Methode und der Tusche-Methode.	69
Abbildung 11: Hydraulische Wirksamkeit von Änderungen der radialen Differenz des osmotischen und hydrostatischen Druckes auf die Exsudation dekapitierter Wurzelsysteme.	74
Abbildung 12: Beweis, dass die vorübergehende Reaktion des Volumenflusses auf Anlegen einer radialen hydrostatischen Differenz in der Wurzel verursacht wird.	76
Abbildung 13: Beschreibung der hydrostatisch bedingten Xylemsaftflussänderung mit zwei verschiedenen Funktionsgleichungen.	77
Abbildung 14: Ursache der schnell abklingenden Initialänderung des Xylemsaftflusses, welche nach Veränderung der radialen Druckdifferenz an einem verzweigten Wurzelsystem beobachtet wird.	80
Abbildung 15: Reaktion des Xylemsaftflusses auf oszillierende Druckänderungen ($\Delta p \pm 250$ mbar)	81
Abbildung 16: Osmotisch bedingte Flussänderung nach der Zugabe von PEG 600 bei niedrigem und hohem osmotischem Druck des Mediums.	85
Abbildung 17: Einfluss kleiner Veränderungen des osmotischen Druckes (72 mbar) des Mediums durch Zugabe von Osmolyten mit hoher und geringer Permeabilität an Plasmamembranen.	86
Abbildung 18: Stimulation des Xylemsaftflusses nach Erstzugabe von KNO_3 zu einem nitratfreien Medium.	88
Abbildung 19: Abhängigkeit der Konzentrationen von Li^+ und Na^+ im abgegebenen Xylemsaft von ihrer Präsenz im Wurzelmedium.	90
Abbildung 20: Abhängigkeit der Konzentrationen von Li^+ und Rb^+ im abgegebenen Xylemsaft von ihrer Präsenz im Wurzelmedium.	91
Abbildung 21: Ribitol und Mannitol im Xylemsaft exsudierender Wurzeln.	92
Abbildung 22: Abfall der Mannitolkonzentration im Xylemsaft nach Überführung der exsudierenden Wurzeln in mannitolfreies Medium.	93
Abbildung 23: Abhängigkeit des Mannitolflusses J_s in den Spross und des berechneten Mannitol-Verteilungskoeffizienten χ zwischen dem Xylemsaft und dem Medium vom Volumenfluss J_v .	97

Abbildung 24: Veränderung der elektrischen Leitfähigkeit und des Xylemsaftes nach Unterbrechung des Xylemsaft-Volumenflusses.	98
Abbildung 25: Halmbürtige Adventivwurzel des Schilfes und ihre Seitenwurzeln.	103
Abbildung 26: Lignin und Suberin in der apikalen und basalen Region der feinen Seitenwurzeln halmbürtiger Adventivwurzeln.	104
Abbildung 27: Nachweis der Strömung der Tuschesuspension in den stelaren Gefäßen und den kortikalen Interzellularkanälen der Seitenwurzeln.	107
Abbildung 28: Radiale Permeation von Säurefuchsin in feinen Seitenwurzeln.	108
Abbildung 29: Färbung der Xylemgefäße und Interzellularspalten in Querschnitten nach der Inkubation einer Seitenwurzel in einer gegenüber dem Xylemsaft hypertonen Evans Blau-Lösung.	109
Abbildung 30: Ausströmen von Xylemsaft und Interzellularflüssigkeit aus isolierten Seitenwurzeln in die Tuschesuspension.	111
Abbildung 31: Volumenfluss in den kortikalen Interzellularen isolierter Seitenwurzeln verschiedener Heliophyten.	112
Abbildung 32: Vorübergehende Änderung der Exsudationsgeschwindigkeit isolierter Adventivwurzeln beim Wechsel des Brackwassermediums gegen eine Mischung von Brackwasser mit einer isotonischen Lösung von PEG 600.	115
Abbildung 33: Hydraulische Wirkung von NaCl und PEG 600 auf den Xylemsaftfluss.	117
Abbildung 34: Abhängigkeit der Konzentrationen von Na^+ , Li^+ und Cl^- im Xylemsaft einer Adventivwurzel des Schilfes von ihrer Anwesenheit im Medium.	120
Abbildung 35: Abhängigkeit des Verteilungskoeffizienten $\frac{y}{x}$ von Natriumionen und Chloridionen zwischen dem Xylemsaft und dem Medium vom radialen Volumenfluss.	122

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Effektive Diffusionskoeffizienten und spezifische hydraulische Leitfähigkeit von Zellwänden.	16
Tabelle 2: Median des osmotischen Druckes im Xylemsaft der Feinwurzeln, welche mit unterschiedlicher Salzkonzentration des Mediums angezogen und äquilibriert wurden.	70
Tabelle 3: Medianwert des osmotischen Druckes im Xylemsaft der Feinwurzeln von Mais in Abhängigkeit vom osmotischen Druck des Anzuchtmediums und den Osmolyten im Testmedium.	70
Tabelle 4: Vergleich des Medianwertes des osmotischen Druckes im Xylemsaft mit dem osmotischen Druck des Exsudates der Hauptwurzel.	71
Tabelle 5: Abnahme des exsudierenden Anteils von Feinwurzeln in einem mannitol- oder glucosehaltigen Medium.	72
Tabelle 6: Parameter von Gleichung 8 welche die Kinetik der Flussänderung nach Applikation eines hydrostatischen Druckgradienten beschreiben (vergl. Abbildung 14, Abbildung 16).	78
Tabelle 7: Parameter der osmotisch bedingten Hemmung des Xylemsaftflusses in Medien mit hohem und niedrigem Salzgehalt (vergl. Abbildung 16).	82
Tabelle 8: Initiale Maximaländerung und permanente Änderung des Xylemsaftflusses nach Zugabe verschiedener Osmolyte zum Medium.	87
Tabelle 9: Stimulierende Wirkung von Nitrationen auf die Exsudation von Xylemsaft - Spezifität, Induzierbarkeit durch Nitrat und Substratsättigung.	89
Tabelle 10: Verteilung von Mannitol zwischen Spross und Wurzel von Maispflanzen nach 24-stündiger Exposition gegenüber Mannitol.	94
Tabelle 11: Mittlerer Verteilungskoeffizient von Mannitol zwischen dem Xylemsaft und dem Medium χ bei unterschiedlichen Transpirationsraten.	95
Tabelle 12: Strömung von Dextranmolekülen unterschiedlicher Größe durch das Wurzelsystem von Maispflanzen.	99
Tabelle 13: Messwerte zur Ermittlung der Elastischen Volumenkapazität und des Volumenelastizitätsmodulus der Maiswurzeln.	101
Tabelle 14: Morphometrische Beschreibung von überwiegend flüssigkeitsgefüllten (absinkenden) und luftgefüllten Interzellularräumen (schwimmenden) Seitenwurzeln halmbürtiger Adventivwurzeln.	105
Tabelle 15: Morphometrische Charakterisierung der halmbürtigen Adventivwurzeln des Schilfes.	106
Tabelle 16: Fähigkeit isolierter Schilf-Seitenwurzeln zur anfänglichen und permanenten Exsudation aus dem Kortex und der Stele in Lösungen unterschiedlicher Osmolyte.	113
Tabelle 17: Kritischer Osmotischer Druck verschiedener Osmolyte für die Reversion des Gesamtflusses aus Stele und Kortex in 50 % der isolierten Seitenwurzeln (π_{50}).	114
Tabelle 18: Einfluss der Salzkonzentration des Standortwassers auf die Änderung des Xylemsaftflusses in Adventivwurzeln des Schilfes nach Erhöhung der Salzkonzentration.	118
Tabelle 19: Osmotischer Druck und Konzentration ausgewählter Elektrolyte im Xylemsaft exsudierender Adventivwurzeln des Schilfes an einem Brackwasserstandort.	121
Tabelle 20: Osmotischer Druck und Elektrolytkonzentration im Xylemsaft der Halminternodien des Schilfes von einem Brackwasserstandort.	123
Tabelle 21: Osmotischer Druck und Ionenkonzentration im Presssaft verschiedener Gewebe der Schilfpflanzen an einem Brackwasserstandort.	124

Abkürzungsverzeichnis

A –	Amplitude
C –	elastische Volumenkapazität [bar^{-1}]
C_{trans} –	Konzentration eines Stoffes auf der <i>trans</i> -Seite einer Membran [mol l^{-1}]
C_{cis} –	Konzentration eines Stoffes auf der <i>cis</i> -Seite einer Membran [mol l^{-1}]
C_0 –	Konzentration eines Stoffes im Medium [mol l^{-1}]
C_x –	Konzentration eines Stoffes im Xylemsaft [mol l^{-1}]
\bar{C} –	mittlere Konzentration eines Stoffes in einer Membran [mol l^{-1}]
D^* –	effektiver Diffusionskoeffizient eines niedermolekularen Stoffes in der Zellwand [$\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$]
$\Delta J, \Delta J_v$ –	Differenz zwischen dem <i>steady state</i> -Volumenfluss der Exsudation vor und nach der Änderung der Wasserpotenzialdifferenz zwischen Xylemlumen und Medium [nl s^{-1}]
ΔJ_{vp} –	Differenz zwischen dem <i>steady state</i> -Volumenfluss der Exsudation vor und nach einer hydrostatischen Druckänderung [nl s^{-1}]
$\Delta J_{v\pi}$ –	Differenz zwischen dem <i>steady state</i> -Volumenfluss der Exsudation vor und nach einer osmotischen Druckänderung [$\text{mm}^3 \text{s}^{-1}$]
ΔJ_{max} –	maximale Änderung des Exsudationsflusses nach der Änderung der Wasserpotenzialdifferenz [nl s^{-1}]
Δp –	experimentell induzierte Änderung der hydrostatischen Druckdifferenz [bar]
$\Delta \pi$ –	experimentell induzierte Änderung der osmotische Druckdifferenz [bar]
ΔV –	Volumenänderung [mm^3]
J, J_v –	Volumenfluss [nl s^{-1}] (wurzelbezogen) oder [mm s^{-1}] (flächenbezogen)
J_D –	diffusiver Austauschfluss [mm s^{-1}] (flächenbezogen)
J_s –	Teilchenfluss [nmol s^{-1}] (wurzelbezogen) oder $\text{nmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ (flächenbezogen)
J_t –	aktueller Volumenfluss der Exsudation zum Zeitpunkt t [nl s^{-1}] (wurzelbezogen)
J^0 –	aktueller Volumenfluss der Exsudation zum Zeitpunkt $t = 0$ [nl s^{-1}] (wurzelbezogen)
k, l –	Proportionalitätsfaktoren
L –	elektrische Leitfähigkeit [mS cm^{-1}]
L_D –	Austauschkoeffizient [$\text{cm}^3 \text{s}^{-1} \text{bar}^{-1}$] (wurzelbezogen) oder [$\text{cm s}^{-1} \text{bar}^{-1}$] (flächenbezogen)
L_P –	hydraulische Leitfähigkeit [$\text{cm}^3 \text{s}^{-1} \text{bar}^{-1}$] (wurzelbezogen) oder [$\text{cm s}^{-1} \text{bar}^{-1}$] (flächenbezogen)
L_{PD} –	Ultrafilterkoeffizient [$\text{cm}^3 \text{s}^{-1} \text{bar}^{-1}$] (wurzelbezogen) oder [$\text{cm s}^{-1} \text{bar}^{-1}$] (flächenbezogen)
L_{PP} –	spezifische hydraulische Leitfähigkeit der Zellwand [$\text{cm}^2 \text{s}^{-1} \text{bar}^{-1}$]
$L_{P(hydr)}$ –	hydraulische Leitfähigkeit nach hydrostatischer Druckapplikation bei Verwendung der Wurzeldrucksonde [$\text{cm s}^{-1} \text{bar}^{-1}$]
$L_{P(osm)}$ –	hydraulische Leitfähigkeit nach osmotischer Druckapplikation bei Verwendung der Wurzeldrucksonde [$\text{cm s}^{-1} \text{bar}^{-1}$]
PEG –	Polyethylenglykol
P –	apparenter Permeabilitätskoeffizient [$\text{mm}^3 \text{s}^{-1}$] (wurzelbezogen) oder [mm s^{-1}] (flächenbezogen)

t –	Zeit [s]
V –	Volumen [mm ³]
α –	Geschwindigkeitskonstante der exponentiellen Änderung des Volumenflusses in den Gefäßen [s ⁻¹]
α –	Drehwinkel [°]
χ –	Verteilungskoeffizient, Verhältnis zwischen den Konzentrationen eines Osmolyten auf der <i>trans</i> - und der <i>cis</i> -Seite einer Membran (Xylemsaft und Medium)
ε –	effektiver Volumenelastizitätsmodulus der lebenden Gewebe einer Wurzel [bar]
π_x –	osmotischer Druck des Xylemsaftes [bar]
π_0 –	osmotischer Druck des Mediums [bar]
ω –	$J_s / \Delta\pi = P / RT$, Koeffizient für die diffusive Beweglichkeit eines Osmolyten in der Membran [mol cm ² bar ⁻¹ s ⁻¹]
σ –	Reflexionskoeffizient einer Membran
σ_r –	radialer Reflektionskoeffizient der Wurzel
τ –	Halbwertszeit [s]

Zusammenfassung

Mechanismen des radialen Volumenflusses und der radialen Permeation von Osmolyten in verzweigten Wurzeln junger Maispflanzen (*Zea mays* L.) und halmbürtigen Adventivwurzeln des Schilfes (*Phragmites australis* Trin ex Steudel)

Der Anlass für diese Arbeit ergab sich aus dem noch bestehenden Klärungsbedarf hinsichtlich der Mechanismen des radialen Volumenflusses des Wassers und der passiven radialen Permeation von niedermolekularen Osmolyten durch die Wurzel, die von besonderer Bedeutung für die Anpassung der Halophyten und euryhalinen Pflanzen an hohe Salzkonzentrationen sind.

Im theoretischen Teil wird gezeigt, dass die Interpretation der Wurzeldruckänderungen, auf denen die von Steudle (2000) vertretene Hypothese eines physiologisch signifikanten rein apoplastischen Strömungsweges für den Wassertransport beruht, selbst für die mit der Wurzeldrucksonde untersuchten apikalen Segmente der Hauptwurzel nicht zwingend ist. Die Analyse der Literatur führte zu der Hypothese, dass die radial gerichteten Zellwände des Kortex für den konvektiven Volumenfluss einen weit größeren Widerstand darstellen als die Protoplasten, während der relativ hohe Diffusionskoeffizient niedermolekularer Stoffe in der Zellwandmatrix eine Permeabilität des den Symplasten umgehenden radialen Zellwandweges bedingt, welche bei hohen Konzentrationen des Mediums physiologisch signifikante Radialflüsse von Ionen und Nichtelektrolyten ermöglicht. Es sollte in diesem Zusammenhang geklärt werden, ob beim Schilf an Brackwasserstandorten die Diffusion von NaCl durch die feinen Seitenwurzeln auf dem apoplastischen Weg in Verbindung mit protoplastisch kontrolliertem Wassertransport und der bereits bekannten Entsalzung des aufsteigenden Xylemsaftes zur Erleichterung der Wasseraufnahme und zu einem hohen Turgor in den jungen Blättern beiträgt.

Im experimentellen Teil werden zwei im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Methoden dargestellt, mit deren Hilfe die Richtung des Volumenflusses an isolierten feinen Seitenwurzeln bestimmt werden kann. Mit Hilfe dieser Methoden wurde die Variationsbreite der feinen Seitenwurzeln junger Maispflanzen hinsichtlich des osmotischen Druckes ihres Xylemsaftes im Zustand der osmotisch getriebenen Exsudation charakterisiert. Es wurde eine Methode entwickelt, mit deren Hilfe der Medianwert des osmotischen Druckes des Xylemsaftes von isolierten Feinwurzeln bestimmt werden kann. Es wurde gezeigt, dass die Variabilität des osmotischen Druckes des Xylemsaftes in den Feinwurzeln stärker von

Variationsbreite der radialen hydraulischen Leitfähigkeit als von derjenigen des radialen Teilchenflusses bestimmt wird. Der unpermeable Osmolyt Dextran 8 wirkte auf den Radialfluss durch die feinen Seitenwurzeln hydraulisch nicht stärker als NaCl und Mannitol. Der osmotische Druck des Xylemsaftes nahm auf Grund von Kohlenhydratmangel ab, wenn die isolierten Seitenwurzeln längere Zeit im glucosefreien Nährmedium inkubiert werden.

Im Unterschied zu den Seitenwurzeln von Mais, in denen alle Interzellularkanäle luftgefüllt sind, waren die Interzellularkanäle in den feinen Zweigwurzeln der Schilf-Adventivwurzeln zum großen Teil mit einer gegenüber dem Süßwasser- oder Brackwassermedium hypertonen Flüssigkeit gefüllt. Der permanente Volumenfluss aus den kortikalen Interzellularkanälen der isolierten Schilf-Feinwurzeln lässt vermuten, dass osmotisch wirksame Mengen gelöster Teilchen aus dem Symplasten in den kortikalen Apoplasten sekretiert wurden oder dass Osmolyte aus dem stelaren Apoplasten durch die Radialwände der Endodermis in den Apoplasten des Kortex diffundierten.

Zur Analyse des Volumenflusses durch intakte Wurzelsysteme wurde ein empfindlicher thermoelektrischer Fluss-Sensor mit hoher Zeitauflösung und vernachlässigbar kleinem Strömungswiderstand eingesetzt. Bei kleinen hydrostatisch oder osmotisch bedingten Relativänderungen und starken Xylemsaftflüssen stellte sich das neue Fließgleichgewicht in drei bis vier Minuten ein.

Die hydrostatisch bedingte Veränderung des Volumenflusses war durch eine starke anfängliche Reaktion gekennzeichnet, die ohne Verzögerung einsetzte, in den ersten 20 s bereits abgeklungen war und auf der elastischen Volumenänderung der Metaxylemgefäße der Hauptwurzel beruht. In einer zweiten Phase wurde die Kinetik des Übergangs zum neuen Fließgleichgewicht durch die passive Änderung der Xylemsaftkonzentration kontrolliert.

Die hydraulischen Effekte von Osmolyten, deren radiale Permeabilitätsgeschwindigkeit gegenüber dem radialen Volumenfluss der Exsudation bei starken Volumenflüssen vernachlässigt werden kann (PEG 600, Mannitol und NaCl), waren nicht signifikant verschieden. Wurden die Experimente bei hohem Wasserpotenzial des Mediums durchgeführt, war die permanente Hemmung nach Einstellung des neuen Fließgleichgewichtes fast ebenso stark wie die nach 10 bis 20 s erreichte maximale Hemmung. Die Verzögerung, mit der sich das Maximum der osmotisch bedingten Hemmung einstellte, kann durch den diffusionslimitierten Anstieg der Konzentration des Osmolyten im Oberflächenfilm und im „apoplastischen Freien Raum“ erklärt werden. Während des Maximums der osmotischen Hemmung überlagerten sich die entgegen gerichteten

hydraulischen Wirkungen des kortexseitigen Konzentrationsanstieges im „Freien Raum“ und der passiven Konzentrierung der Osmolyte im Xylemsaft.

Wenn der osmotische Druck des Mediums gegenüber demjenigen des Xylemsaftes klein bleibt und das Experiment mit einem Osmolyten durchgeführt wird, dessen Permeabilitätskoeffizient gegenüber dem radialen Volumenfluss klein ist, kann aus Stärke der permanenten Hemmung der Exsudation unter Berücksichtigung der passiven Erhöhung des osmotischen Druckes im Xylemsaft die hydraulische Leitfähigkeit der Wurzel berechnet werden.

Die durch 3 mM Ethanol oder Methanol bewirkte initiale osmotische Hemmung betrug nur etwa 60 % gegenüber derjenigen, die mit Mannitol in isotonischer Konzentration erreicht wurde. Die permanente Hemmung nach Zugabe von Methanol oder Ethanol lag unter 30 % der maximalen Hemmung. Während der Periode der maximalen osmotischen Hemmung durch Ethanol und Methanol war die hydraulische Wirkung der Diffusion in den „Freien Raum“ bereits mit derjenigen der radialen Permeation der Osmolyte überlagert.

Die Zugabe von KNO_3 (1,5 mM) zu einem nitratfreien Medium exsudierender Wurzeln mit voll exprimiertem System der Nitrataufnahme führte zu einer starken Stimulation der Volumenflusses. Dieses Phänomen trat nicht auf, wenn das Medium bereits Nitrat enthielt oder die Wurzeln längere Zeit auf einem nitratfreien Medium gehalten wurden. Der zusätzliche radiale Teilchenfluss durch den Symplasten, dem die Stimulation des Volumenflusses zugrunde lag, war nach Zugabe der Nitrationen ohne erkennbare Verzögerung hydraulisch wirksam. Er reduzierte das initiale Maximum der osmotischen Hemmung 10 bis 20 s nach der Zugabe und kompensierte die osmotische Hemmung im Verlauf nach etwa 2 min.

Durch unterschiedliche Experimente wurde ausgeschlossen, dass der radiale Volumenfluss durch den Apoplasten intakter Mais- und Schilfwurzeln im Vergleich zum Volumenfluss durch die Protoplasten signifikant war:

- Der osmotische Druck des Mediums, der zur Umkehr der Xylemsaftflussrichtung in isolierten feinen Seitenwurzeln führt, war von der Molekülgröße der Osmolyte (Salze, niedermolekulare Nichtelektrolyte, Polymere) unabhängig, obwohl nur die polymeren Osmolyte einen Zellwand-Reflexionskoeffizient weit über null besitzen.
- Die Wirksamkeit einer kleinen Relativänderung der radialen osmotischen Wasserpotenzialdifferenz hinsichtlich der Veränderung der stationären Exsudationsgeschwindigkeit war bei unverletzten Wurzeln nicht signifikant schwächer als diejenige vergleichbarer Änderungen der hydrostatischen Druckdifferenz.

- Das bereits früher an Gersten-, Reis- und Tomatenwurzeln von anderen Autoren festgestellte Fehlen von echtem *solvent drag* wurde auch bei unverletzten Mais- und Schilfwurzeln festgestellt. Durch starke radiale Wasserflüsse wurde die Konzentration der eingesetzten Osmolyte NaCl und Mannitol im Xylemsaft bis auf weniger als 1 % ihrer Konzentration im Medium reduziert. Dies beweist, dass der radiale Wurzelreflexionskoeffizient für die genannten Substanzen über 0,99 liegt.

Obwohl der apoplastische Weg zum radialen Volumenfluss keinen messbare Beitrag leistet, beruhte der radiale Transport von NaCl und Alditolen durch die kortikalen apoplastischen Barrieren (Hypo- bzw. Exodermis und Endodermis) überwiegend auf der Diffusion durch die Radialwände, wenn die genannten Stoffe in osmotisch relevanten Konzentrationen (> 10 mM) im Medium vorlagen. Dies wird durch folgende Ergebnisse dieser Arbeit bewiesen:

- Wurden Alditole, NaCl, LiCl dem Wurzelmedium hinzugefügt, erreichten diese Stoffe im Xylemsaft von exsudierenden Mais- und Schilfwurzeln in kurzer Zeit Konzentrationen von 10 bis 80 % derjenigen des Mediums. In der gleichen Zeit wurden im Gewebe keine vergleichbaren Konzentrationen durch Aufnahme in den Symplasten erreicht. Wurden die Wurzeln anschließend in ein von den genannten Osmolyten freies Medium überführt, sank deren Konzentration im Xylemsaft ebenso schnell auf einen Wert von nahe null, wie sie vorher angestiegen war. Bei halbbürtigen Adventivwurzeln des Schilfes, die sich im Brackwasser entwickelt hatten und NaCl in hoher Gewebskonzentration enthielten, war die Anwesenheit der Natriumionen im Xylemsaft von ihrer Anwesenheit im Medium direkt und reversibel abhängig.
- Säurefuchsin und PEG 600 wurden nach kurzer Zeit in geringer aber gut messbarer Konzentration im Xylemexsudat nachgewiesen, nachdem vergleichsweise hohe Konzentrationen dieser Substanzen im Medium eingestellt wurden.

Die Kombination eines hohen Reflexionskoeffizienten der feinen Seitenwurzeln mit einer signifikanten diffusiven Permeabilität des Apoplasten für NaCl ist für die Salztoleranz des Schilfes bedeutsam. Das Fehlen von echtem *solvent drag* schützt die Schilfhalme an Brackwasserstandorten vor einer Verstärkung der Salzbelastung bei hohen Transpirationsraten. Sind die radialen Volumenflüsse im Vergleich zur Permeabilität des kortikalen Apoplasten für NaCl niedrig, wird durch eine hohe Konzentration des diffusiv eingedrungenen Salzes im Xylemsaft die osmotische Hemmung der Wasseraufnahme durch das Brackwasser des Standortes abgeschwächt. Dies mindert - in Verbindung mit der Fähigkeit

dieser Pflanzen zur Entsalzung des Xylemsaftes an der Sprossbasis - den Einfluss des Brackwassers auf das Wasserpotenzial der Blätter.

Schlagwörter: Apoplast, Salztoleranz, Wassertransport in Seitenwurzeln, Wurzel-Reflexionskoeffizient, Xylem.

Abstract

Mechanisms of the radial volume flux and the radial permeation of osmolytes in branched roots of young maize plants (*Zea mays* L.) and culm-born adventitious roots of the common reed (*Phragmites australis* Trin ex Steudel) This study was provoked by the still existing requirement to clarify the mechanisms of the radial water flux and the passive radial permeation of salts and nonelectrolytes through the fine lateral roots, which are especially significant for a physiological understanding of the root function of halophytes and euryhaline plants.

In the theoretical part it is shown that the hypothesis of a physiologically significant strictly apoplastic bypass for radial water transport derived from osmotically induced root pressure changes (Steudle, 2000) was not unequivocally proven even for the apical root segments that were investigated with the root pressure probe. The analysis of the literature led to the hypothesis that the convective resistance of the radial cell wall path prevents its significant contribution to radial water transport, while the relatively high diffusion coefficients of small molecules in the cell wall matrix are compatible with a physiologically significant radial solute permeability on the cell wall pathway at high solute concentrations. In this context it was aimed to analyse, whether radial diffusion of NaCl through the apoplast of fine lateral roots of the reed plant growing in brackish waters contributes to a high water potential in the growing and assimilating leaves when it is combined with strictly protoplasmic radial water transport and salt removal from the ascending sap at the culm basis.

In the experimental part two methods were developed that enable a determination of the direction of the volume flux through isolated lateral roots. These methods were used to characterize the range of variation of the osmotic pressure of the xylem sap in fine lateral roots of maize in the state of osmotically driven exudation. A method for the estimation of the median value of the osmotic pressure of the xylem sap in the isolated fine laterals was developed. It was shown that the large range of variation of the osmotic pressure of the xylem sap in the exuding fine lateral roots was not mainly due to the variability of radial

solute flux but due to the variability of the radial hydraulic conductivity. With respect to the osmotic inhibition of radial water uptake the unpermeable polymer osmolyte Dextran 8 was hydraulically not more efficient than NaCl and mannitol. The osmotic pressure of the xylem sap in isolated fine laterals was decreasing due to carbohydrate starvation at their incubation in a culture medium without glucose.

In contrast to the lateral roots of maize, where all intercellular channels were containing gas, most intercellular channels in the narrow root branches of the reed plant contained a liquid that was hypertonic in comparison to the water of fresh or brackish waters, wherein the roots were grown. The observed permanent volume flux from the cortical intercellular channels of the isolated lateral roots into their growth medium suggests that there was either secretion of osmotically active solutes from the symplast into the cortical apoplast or osmolytes were leaking from the stele into the cortical apoplast through the radial endodermal walls.

Volume fluxes through intact root systems were studied with high time resolution using a sensitive thermo-electrical sensor without significant hydraulic resistance. Small relative changes of the exudation rate induced by changing the radial difference in hydrostatic or osmotic pressure were terminated by the establishment of the new steady state within 3 to 4 min.

The hydrostatically induced change of the volume flux was characterized by a strong rapid response, which appeared without lag phase and disappeared within about 20 seconds. This response reflected an elastic change in the volume of the metaxylem vessels in the main root axis. In a second phase the kinetics of the hydrostatically induced transition to the steady new state was determined by the passive change in the xylem sap concentration.

The hydraulic effects of osmolytes with a radial permeability that was small in comparison to the radial volume flux (PEG 600, mannitol and NaCl) did not show significant differences. The maximum of the osmotic inhibition was registered 10 to 20 seconds after addition of these osmolytes. The retardation of initial maximum of the osmotic inhibition can be explained by the time required for diffusion of the osmolytes in the surface film and the free space. At the time of the maximum inhibition, the osmotic inhibition of the volume flux was already superposed by reserve effect of the passive increase in the xylem sap concentration. When measured at high water potential, the permanent inhibition by a relatively small increase in the osmotic pressure of the medium was almost as strong as the maximal one.

The radial hydraulic conductivity of a root can be calculated from the osmotically induced permanent inhibition of the exudation rate under consideration of the passive increase in the xylem sap concentration, if the osmotic pressure of the medium remains small in comparison to that of the xylem sap and the experiments are carried out with an osmolyte whose radial permeability coefficient is low in comparison with the radial volume flux.

The maximum osmotic inhibition induced by 3 mM ethanol or methanol was smaller by about 60 % than that of mannitol in isotonic concentration. The permanent inhibition after addition of these osmolytes was much smaller than the maximum one (less than 25 %). During the period of maximum osmotic inhibition by ethanol or methanol the hydraulic effect of diffusion into the cortical free space was superimposed by that of a rapid radial permeation.

Addition of KNO_3 (1.5 mM) to a nitrate free medium of exuding maize roots with fully expressed system of radial nitrate transport resulted in a strong stimulation of the radial volume flux. The stimulating effect was absent, when the medium did already contain nitrate or the roots had been grown for a longer time without nitrate. The additional radial solute flux through the symplast, which induced the increase of the exudation rate by nitrate, was active without measurable lag. Its effect reduced the initial maximum of the osmotic inhibition 10 to 20 seconds after the addition of KNO_3 and completely compensated the osmotic inhibition within about 2 minutes.

It was excluded by different experimental findings that the radial volume flux through the apoplast in intact roots of maize and reed was significant in comparison to the volume flux through the protoplasts:

- The osmotic pressure of the root medium that induced reversal of the xylem sap flow direction in isolated fine roots of maize was independent on the molecular size of the osmolytes used (salts, low molecular weight non-electrolytes and polymers) although the cell wall reflection coefficient is above zero only for the polymers.
- Regarding the stationary exudation rate by uninjured maize roots the hydraulic efficiency of relatively small changes of the radial osmotic pressure difference was not significantly lower than that of comparable changes of the radial hydrostatic pressure difference.
- The absence of a significant true solvent drag previously described for roots of tomato, barley and rice, was confirmed for uninjured branched roots of reed and maize. Strong pressure-driven volume fluxes reduced the xylem sap concentration of the applied osmolytes

to less than 1 % of their concentration in the root medium. This proves that the radial root reflection coefficient for the mentioned osmolytes is higher than 0.99.

Although the apoplastic pathway does not contribute significantly to radial volume flux, radial transport of NaCl and alditols through the cortical barriers (Hypo- /Exodermis, Endodermis) is mainly realized by diffusion through the radial cell radial walls, if the mentioned solutes are present in the medium at high concentrations (> 10 mM). This could be proven by following experimental findings:

- In the xylem sap of exuding roots NaCl, LiCl and mannitol added to the medium in high concentrations reached 10 to 80 % of the medium concentration, when their concentrations in the symplast was still much lower than in the vessels. After the transfer of the roots to a medium devoid of these osmolytes, their concentration in the xylem sap decreased as rapidly as it had been previously increased. In the adventitious roots of reed plants from a brackish stand, which contained NaCl in high concentrations in the symplast, the concentration of sodium ions in the xylem sap was directly and reversibly dependent on their presence in the root medium.
- Acid Fuchsin and PEG 600 were found in the exuded xylem sap of reed and maize roots in low but measurable concentrations within a short time, when added to the medium in a high concentration.

The combination of a high radial reflection coefficient of the fine lateral roots with their significant permeability for NaCl on the apoplastic path is physiologically significant for the salt tolerance of the reed plant growing in brackish water. The absence of solvent drag protects the culms from increased salt translocation to the growing and assimilating leaves at high rates of transpiration. At radial volume fluxes that are small in comparison to the radial permeability coefficient of NaCl, a high concentration of NaCl in the xylem sap weakens the osmotic inhibition of water uptake by the brackish medium. In combination with the ability of the basal culm segments to remove sodium and chloride ions from the ascending xylem sap this reduces the negative impact of the brackish substrate on the water potential in the growing and assimilating leaves.

Keywords: apoplast, root reflection coefficient, salt tolerance, water transport in lateral roots, xylem.

1 Theoretischer Teil

1.1 Probleme der Kopplung zwischen dem radialen Transport des Wassers und gelöster Substanzen durch die lebenden Gewebe der Wurzel

1.1.1 Die Bedeutung des extrafaszikulären Radialtransportes in den feinen Seitenwurzeln für die Wasserversorgung und Pflanzenernährung

Die Größe der meist poikilohydran gefäßfreien Thallophyten wird bekanntlich durch den Nachleitwiderstand des Wassers im lebenden Gewebe stark limitiert. Sie überschreiten selten eine Wuchshöhe von wenigen Zentimetern. Beim konvektiven Wasserfluss durch transpirierende Tracheophyten aus der Flüssigphase des Bodens bis zum transpirativen Wasserverlust durch die Blätter liegt der hauptsächliche Strömungswiderstand im extrafaszikulären Gewebe, das die Gefäße umgibt (Weatherley, 1976; Pittermann, 2010). Deswegen sind die Endglieder des stark verzweigten Gefäßsystems von der Wurzeloberfläche oder den Interzellularräumen des Blattes nur Bruchteile eines Millimeters entfernt. Auf Grund der geringeren Anzahl und dem geringen Durchmesser der Xylemgefäße in den Feinwurzeln im Vergleich zu denen in der Achse der größeren Seitenwurzeln und der Hauptwurzel haben die feinen Seitenwurzeln eine geringere axiale hydraulische Leitfähigkeit als die Achsen höherer Ordnung, in denen der gesammelte Xylemsaft in den Spross geleitet wird. Die feinen Seitenwurzeln machen in einjährigen Pflanzen häufig mehr als 50 % der Biomasse aus (Pierret et al., 2005) und bilden den dominieren Anteil an der Oberfläche des Wurzelsystems. Ob der strömungsbedingte axiale Druckabfall in den Feinwurzeln geringer ist als in den Gefäßen der Hauptachsen ist nicht abschließend geklärt (Pittermann, 2010). Die im Verhältnis zu Wurzeln höherer Ordnung geringe Anzahl kortikaler Zellschichten bewirkt einen geringen Radialwiderstand für den Wasserfluss. Von isolierten Primärwurzeln von Mais (Frensch und Steudle, 1989) und Gerste (Knipfer und Fricke, 2010) ist bekannt, dass der radiale Strömungswiderstand deutlich, im Falle der Gerstenwurzel bis zu 20-fach, größer ist als der axiale Strömungswiderstand in den Gefäßen. Es ist wegen der weit größeren Oberfläche der Feinwurzeln anzunehmen, dass die

hydraulische Leitfähigkeit des gesamten Wurzelsystems im Kortex der Feinwurzeln bestimmt wird.

1.1.2 Wege des radialen Wasser- und Volumenflusses durch die extrafaszikulären Wurzelgewebe

Die äußere Abgrenzung der Wurzel ist die für Absorptionsfunktionen spezialisierte Epidermis (Rhizodermis) welche normalerweise keine Kutikula aufweist. Nach dem Absterben der Epidermiszellen differenziert sich die unter der Rhizodermis gelegene ein- oder mehrschichtige Hypodermis zur Exodermis, die dann das lebende Abschlussgewebe bildet. Häufig wird der Begriff Exodermis auch zur Bezeichnung der Hypodermis eingesetzt, insbesondere wenn sekundäre Veränderungen in Form eines Caspary-Streifen und/oder Suberin-Einlagerungen vorliegen (Zimmermann und Steudle, 1998; Hose et al., 2001; Armstrong und Armstrong, 2001; Soukup et al., 2007). Im Unterschied zu den Schichten des äußeren und inneren Abschlussgewebes bilden die parenchymatischen Zellen des Kortex einen oder mehrere Zellringe mit schizogenen und oft auch lysigenen Interzellularräumen, die in vielen Fällen, z.B. bei der Primärwurzel junger Maispflanzen (Michael et al., 1999) und den halmbürtigen Adventivwurzeln erster Ordnung bei Schilfpflanzen (Soukup et al., 2002) alle mit Gas gefüllt sind. Der Kortex besitzt ein inneres Abschlussgewebe, die Endodermis, die den Apoplasten des Kortex von dem der Stele trennt. Nach außen wird die Stele durch den Perizykel, eine epithelartige Schicht protoplasma-reicher kleiner Zellen, abgegrenzt. In dieser Schicht entstehen hinter der Wurzelhaarzone die Seitenwurzeln. Die peripheren parenchymatischen Zellen der Stele bilden keine oder nur sehr kleine Interzellularräume; dafür haben sie häufig verdickte suberinisierte und/oder lignifizierte Wände. Sie umschließen die in radialen Xylemstrahlen angeordneten Gefäße und das zwischen ihnen liegende Phloem. Während bereits in der Differenzierungszone, wenige Millimeter hinter der Wurzelspitze, die Protoxylemgefäße durch die peripher angelegten Gefäße des frühen Metaxylem ergänzt bzw. ersetzt werden, erfolgt die Differenzierung der weiter innen angelegten weiträumigen Gefäßinitialen des späten Metaxylems aus hochvakuolisierten, dünnwandigen Zellen zu funktionsfähigen Gefäßen erst in der Seitenwurzelzone. Das späte Metaxylem wird in Hauptwurzeln oder dickeren Seitenwurzeln erst im Zusammenhang mit der Verzweigung differenziert.

Der größte Teil der Transportstrecke zwischen dem Medium und den Xylemgefäßen befindet sich im Kortex, während der Weg von der Endodermis in die Gefäße verhältnismäßig kurz ist. Die Abschlussgewebe des Kortex (Rhizodermis, Hypodermis, Exodermis)

bilden die wesentlichen apoplastischen Barrieren für den Radialtransport. Während in tierischen Abschlussgeweben (Epithelien) der Interzellularspalt benachbarter Zellen durch *tight junctions* verschlossen und abgedichtet wird, befindet sich zwischen den Protoplasten pflanzlicher Gewebe eine aus zwei Zellwänden bestehende Trennwand, deren wasserhaltige Matrix als radialer Transportweg für Wasser und gelöste Teilchen in Betracht gezogen werden muss. Die Zellwände, unter Umständen auch denaturierte Zellen oder flüssigkeitsgefüllte Interzellularräume, bilden eine zusammenhängende apoplastische Flüssigphase, die vom Medium bis in die Xylemgefäße reicht. Allerdings hat diese apoplastische Flüssigphase einen sehr geringen Anteil am Gewebevolumen und ist hinsichtlich des Diffusionswiderstandes und des Strömungswiderstandes sehr inhomogen. Auf der Transportstrecke durch den kortikalen Apoplasten kann der lokale Widerstand für radiale Teilchenflüsse auf Grund der variablen Zellwandstärke, des variablen Porenvolumens, der variablen Porenweite der Zellwände und der eventuellen Flüssigkeitsfüllung der Interzellularräume stark variieren. Durch spezielle Diffusionsbarrieren in den radialen Zellwänden der äußeren und inneren Abschlussgewebe des Kortex entstehen in der Wurzel apoplastische Kompartimente, die sich in osmotischer Hinsicht voneinander und vom Medium unterscheiden. Die Einschränkung der Permeabilität des apoplastischen Diffusionsweges wird insbesondere durch Einlagerung von Suberin und Lignin in die Pektinmatrix der Zellwände erreicht. Dies gilt in besonderem Maße für die Endodermis mit den Caspary-Streifen (Priestley, 1920), die in einiger Entfernung vom Apex in den Radialwänden gebildet werden. Obwohl verkorkte und lignifizierte Zellwände wesentlich dichter und feinporiger sind als primäre Wände oder die Wände von einfachen Speicherparenchymzellen, sind auch sie gut mit Wasser benetzbar und besitzen stets eine gewisse Durchlässigkeit für Salze und andere niedermolekulare Stoffe (Brauner, 1956). Die Radialwände der Epidermis und Endodermis trennen den „apoplastischen Freien Raum“ des Kortex (Fleischer und Ehwald, 1995) vom Medium einschließlich des Oberflächenfilms. Der „apoplastische Freie Raum“ entspricht dem flüssigkeitsgefüllten apoplastischen Volumen des Kortex, während der „Freie Raum“ (Briggs und Robertson, 1957; van Fleet, 1961; Laties und Butt, 1964) entsprechend der Methode seiner Bestimmung den gesamten extraplasmatischen Verteilungsraum eines niedermolekularen Stoffes in der Wurzel bezeichnet, der in kurzer Zeit gesättigt ist und daher auch einen Oberflächenfilm einschließt. Die Auffassung von der Existenz zweier getrennter apoplastischer Kompartimente, die durch die starke endodermale Diffusionsbarriere in den Radialwänden der Endodermis voneinander getrennt sind, wurde bereits von De Ruz de Lavison (1910, 1911) und Priestley (1920) geäußert. Sie kann wegen der starken

Konzentrationsunterschiede zwischen dem Xylemsaft und dem äußeren Medium für z.B. Elektrolyte und Aminosäuren, den Wurzeldruck und die Verteilung wasserlöslicher Farbstoffe als bewiesen gelten (Yeo et al., 1987; Enstone et al., 2002). Trotz der feinporigen Struktur, der begrenzten Quellfähigkeit und der reduzierten elektrischen Leitfähigkeit suberinisierter Wände darf nicht angenommen werden, dass die Inkrustierung mit Suberin die Permeabilität der Wände für niedermolekulare Stoffe beseitigt (Brauner, 1956). Die Calciumversorgung des Sprosses kann einen apoplastischen Transport durch die Endodermis erforderlich machen (White, 2001; Hayter und Peterson, 2004). Der kortikale „Freie Raum“ der von Kuhn et al. (2000) untersuchten feinen Seitenwurzeln der Fichte sättigte sich in einer Lösung von 1mM $^{44}\text{CaCl}_2$ mit einer Halbwertszeit von 3 min und damit ca. 40-fach schneller als der stelare Apoplast. Obwohl die Calciumkonzentration in dem von den Carboxylgruppen der Zellwände dominierten Donnan-Raum hohe Werte annahm, wurde innerhalb des Untersuchungszeitraumes keine nennenswerte Aufnahme des $^{44}\text{Ca}^{2+}$ in die kortikalen Protoplasten nachgewiesen. Es ist daher anzunehmen, dass die Calciumaufnahme in den stelaren Apoplasten als Kationenaustauschdiffusion durch die Radialwände der Endodermis stattfand. Die cytosolische Konzentration der Calciumionen unstimulierter Zellen liegt in der Regel im sub-mikromolaren Bereich. Sie wird durch Ca^{2+} -ATPasen und $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -Antiporter aufrechterhalten und regelt calciuminduzierte Signaltransduktionsketten (Sze et al., 2000; Hirschi, 2001). Auf dem symplastischen Wege würde der transzelluläre Calciumtransport durch die Endodermis, welcher wegen des hohen Calciumbedarfes wachsender Sprosse beträchtliche Werte annimmt, sehr viel Energie verbrauchen (White, 2001). Unter Berücksichtigung der notwendigen Anzahl und Dichte der Transportproteine in der Plasmamembran der Endodermis; welche für die Sprossversorgung der untersuchten Zwiebelpflanzen notwendig ist, hielten Hayter und Peterson (2004) einen symplastischen Transport der Calciumionen für möglich, vermuteten jedoch, dass ein großer Teil des translozierten Calciums, mindestens bei weitgehender Calciumsättigung des kortikalen Donnan-Raumes die Endodermis auf dem Zellwandweg passiert. Unterstützt wird diese Annahme durch die Hemmung des radialen Calciumtransportes durch Ba^{2+} und Sr^{2+} , die nur schwer mit der Spezifität der zwei proteinkatalysierten Transportschritte, welche für einen protoplastischen Radialtransport notwendig sind (White, 2001), vereinbar ist. Ob, wie von Wang et al. (1995) vermutet, die apoplastische Permeation durch die Endodermis überwiegend an speziellen Durchlasszellen oder vor allem nahe der Wurzelspitze stattfindet, wo die Endodermis noch nicht sekundär verändert ist (Bangerth, 1979) bzw. in welchem Maße beide Möglichkeiten realisiert sind, ist nicht abschließend geklärt.

Sekundäre und tertiäre Veränderungen in der Exodermis können zu einer Erhöhung des apoplastischen Diffusionswiderstandes zwischen dem kortikalen „Freien Raum“ und dem Medium führen (Clarkson, 1993; Varney und Canny, 1993; Varney et al., 1993; Tsuchiya et al., 1994; Enstone et al., 2002; Soukup et al., 2002; Meyer et al., 2011). Schon auf Grund der deutlich größeren Querschnittsfläche des Zellwandweges in der Exodermis ist jedoch anzunehmen, dass nicht die Exodermis, sondern die Endodermis den apoplastischen Radialtransport gelöster Stoffe kontrolliert (Tsuchiya et al., 1994). Die Bedeutung der äußeren Abschlussgewebe, die in vielen Wurzeln in relativ jungen Zonen noch nicht suberinisiert oder lignifiziert sind, könnte neben Schutz- und Kontrollfunktionen bei der Wechselwirkung der Wurzel mit Pilzen und Bakterien darin bestehen, die kortikale Reabsorption von Xylemsaftbestandteilen zu begünstigen. Bei schwachem Xylemsaftfluss liegen hohe Konzentrationen von Kaliumsalzen und Aminosäuren im stelaren Apoplasten vor. In diesem Fall ist es denkbar, dass diffusives *leaking* der Xylemsaft-Osmolyte durch die Zellwände der Endodermis in den Apoplasten des Kortex durch deren Reabsorption in die Kortexzellen kompensiert wird. Da die Reabsorption in den kortikalen Symplasten eine hohe Konzentration der genannten Xylemsaftbestandteile im „apoplastischen Freien Raum“ des Kortex verhindert, genügt eine relativ schwache apoplastische Diffusionsbarriere in den äußeren Abschlussgeweben, um den Austritt der Xylemsaftbestandteile in das Medium wirksam begrenzen. Diese Vorstellung passt gut zu zahlreichen experimentellen Arbeiten, in denen gezeigt wurde, dass die trägervermittelte Aufnahme von Ionen und Nichtelektrolyten aus dem Medium bei äußeren Konzentrationen unter 1 mM fast ausschließlich an der Epidermis stattfindet (Bange, 1973; Ehwald et al., 1973a; Göring et al., 1974; Grunwaldt et al., 1979; Kochian und Lucas, 1983; Ehwald, 1984).

Da alle lebenden Zellen der Wurzel über Plasmodesmen miteinander verbunden sind, bildet der Symplast ein Kontinuum zwischen dem Medium und den Gefäßen. Der Symplast ist, wie bereits angedeutet, die wichtigste Phase für den radialen Transport der Nährionen, welche im kortikalen Apoplasten in einer gegenüber dem Symplasten sehr geringen Konzentration vorkommen, was in der Regel für die Makronährstoffe mit Ausnahme der Calciumionen zutrifft. Der Symplast ist neben dem äußeren Medium eine wichtige Quelle für die gelösten Bestandteile des Xylemsaftes. Auch wenn das Medium frei von translozierbaren Osmolyten ist, kann eine Ausscheidung von xylemmobilen Ionen oder neutralen Molekülen in die Xylemgefäße erfolgen, wobei diese dem Vakuolenpool des Wurzelsymplasten oder dem Phloem entstammen können. Die in den Spross über die Xylemgefäße transportierten organischen Stickstoffverbindungen werden erst im Wurzelsymplasten

gebildet. Ein großer Teil der Kaliumionen des in der Wurzel gebildeten Xylemsaftes kann dem Wurzelphloem entstammen (Marschner et al., 1997).

Beim Volumenfluss des Wassers von Protoplast zu Protoplast ist zwischen zwei denkbaren Strömungswegen zu unterscheiden. Erfolgt der Volumenfluss durch Plasmodesmen, werden die Zellmembranen und Zellwände umgangen. Parallel zu diesem Weg gibt es den Transportweg durch die Plasmamembranen und die Zellwand. Welcher dieser Wege bevorzugt wird, hängt von ihren flächenbezogenen Strömungswiderständen ab. Leider war es bisher experimentell nicht möglich, den Anteil des symplastischen Transportes am radialen Wasserfluss vom Transportweg von Protoplast zu Protoplast zu bestimmen. Gegen einen überwiegend durch die Plasmodesmen verlaufenden Strömungsweg kann eingewendet werden, dass der gesamte Radialwiderstand des Kortex für den Wasserfluss etwa der Summe der Einzelwiderstände der Kortexzellen entspricht (Jones et al., 1983; Steudle und Jeschke, 1983). Im Folgenden werden, wie es generell üblich ist (Newman, 1976; Steudle, 2000) alle radialen Strömungswege, bei denen auf dem Wege vom Kortex in die Stele Plasmamembranen durchströmt werden, zum protoplastischen Weg des Volumenflusses zusammengefasst. Kommt es zu keiner Permeation durch die Plasmamembran, wird von einem apoplastischen Transportweg gesprochen.

Die hydraulische Leitfähigkeit von Biomembranen kann durch membranständige Aquaporine, den Wassertransport katalysierende integrale Membranproteine, um ein Vielfaches variiert werden (Maurel, 1997). Die flussbedingten radialen Wasserpotenzialgradienten auf dem protoplastischen Weg werden dementsprechend stark durch Expression der Aquaporine (Hachez et al., 2006) und ihre Aktivität mitbestimmt. Die Beeinflussung der radialen Wasserpermeabilität von Wurzeln durch Aquaporininhibitoren wurde in verschiedenen Arbeiten beschrieben (Wan und Zwiazek, 1999; Javot und Maurel, 2002; Martinez-Ballestra et al., 2006). Die Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung des protoplastischen Weges für den Wassertransport.

1.1.3 Die Hypothese eines apoplastischen hydraulischen Kurzschlusses im Parenchym des Kortex

Das bereits in Abschnitt 1.1.2 kurz vorgestellte Konzept des sogenannten „Freien Raumes“ im Wurzelkortex, d.h. eines Raumes, in dem sich in wenigen Minuten die Zusammensetzung der Flüssigphase an diejenige des Mediums angleicht (Briggs und Robertson, 1957), ist selbst für die Diffusion von Ionen und Nichtelektrolyten nur begrenzt anwendbar, weil bei Konzentrationen unter 1 mM die Geschwindigkeit der trägervermittelten Absorption von

Nährionen, Zuckern und Aminosäuren durch die Wurzel die Geschwindigkeit des diffusiven Eindringens dieser Teilchen in den Wurzelapoplasten weit übersteigt (Bange, 1973; Ehwald et al., 1973a; Göring et al., 1974; Grunwaldt et al., 1979). Häufig wird das Konzept des „Freien Raumes“ auf den radialen Volumenfluss des Wassers ausgedehnt, indem man annimmt, dass bis zur Endodermis der apoplastische Weg einen geringeren hydraulischen Widerstand besitzt als der Volumenfluss durch die Protoplasten (Powell, 1978; Sanderson, 1983; Aloni et al., 1998; Freundl et al., 2000; Zimmermann et al., 2000). Dementsprechend wäre im Parenchym des Kortex der Volumenfluss auf dem protoplastischen Weg durch hydraulischen Kurzschluss über den apoplastischen Transportweg stark reduziert. Experimente zu den Wassertransportwegen durch das homogene Speicherparenchym der Kartoffelknolle (Michael et al., 1997) lieferten ein starkes Argument gegen diese Vorstellung. Es wurde gezeigt, dass osmotische Gradienten hochmolekularer Osmolyte, die nicht durch die Zellwände diffundieren, keine signifikant stärkeren Volumenflüsse durch die Gewebeschichten induzieren als gleich große Gradienten niedermolekularer Osmolyte.

Bekanntlich ist der hydraulische Widerstand einer Zellwand, die auf dem kürzesten Wege (senkrecht zur Zelloberfläche) durchströmt wird, wesentlich geringer als der hydraulische Widerstand von Plasmamembranen (Kamiya et al., 1962; Tyree, 1968; Zimmermann und Steudle, 1975; Boyer, 1985). Für die Abschätzung der hydraulischen Leitfähigkeit des Zellwandweges durch ein Gewebe, welcher die Plasmamembranen umgeht und parallel zu den Plasmamembranen verläuft, ist jedoch zu berücksichtigen, dass seine Länge pro Zelle die Dicke einer Zellwand um ein bis zwei Größenordnungen übersteigt, und der Volumenanteil der Zellwände im Gewebe ein bis zwei Größenordnungen unter demjenigen der Protoplasten liegt (Crowdy und Tanton, 1970; Michael et al., 1997). Angaben zur spezifischen hydraulischen Leitfähigkeit von Zellwänden liegen bisher nur für Characeen vor. Das Produkt dieses Wertes mit einer Druckdifferenz von einem bar liegt weit unter den Diffusionskoeffizienten niedermolekularer Stoffe in der Zellwand (Tabelle 1). Um aus der spezifischen hydraulischen Leitfähigkeit der Zellwände die hydraulische Leitfähigkeit für den apoplastischen Radialfluss zu berechnen, muss sie mit dem Kehrwert der Länge und dem Flächenanteil des Zellwandweges multipliziert werden. Die für die unverzweigten Apikalsegmente der Maiskeimwurzel errechneten Werte sind deutlich niedriger als die meisten Angaben zur radialen hydraulischen Leitfähigkeit dieser Wurzeln (Fritz und Ehwald, 2011). Die spezifische hydraulische Leitfähigkeit der suberinisierten Radialwände der Epidermis und Exodermis ist vermutlich weit geringer als diejenige der Characeen-Wände. Berücksichtigt man dies und die Ergebnisse von Michael et al. (1997),

erscheint es wenig wahrscheinlich, dass der Radialfluss des Wassers bis zur Endodermis hauptsächlich auf dem Zellwandweg erfolgt.

Tabelle 1: Effektive Diffusionskoeffizienten und spezifische hydraulische Leitfähigkeit von Zellwänden.

	Material	Methode	Stoff	Werte	Autoren
Effektiver Diffusionskoeffizient D^* [cm ² s ⁻¹]	Kartoffelknolle	Kinetik der Teilchen-diffusion durch den „Freien Raum“ lebender Gewebe	Na ⁺	5 - 6 · 10 ⁻⁶	Michael und Ehwald (1996)
	kortikale Hülle von Maiswurzeln			0,2 - 0,3 · 10 ⁻⁶	Ginsburg und Ginzburg (1970a)
	Speichergewebe der Zuckerrübe		Saccharose	0,6 - 0,9 · 10 ⁻⁶	Richter und Ehwald (1983)
	wachs gefüllter <i>N. flexilis</i> Zellwand-schlauch	Kinetik der Teilchen-diffusion entlang der Zellwand	KCl	8 · 10 ⁻⁶	Tyree (1968)
Spezifische hydraulische Leitfähigkeit der Zellwand L_{PP} [cm ² s ⁻¹ bar ⁻¹]	<i>N. flexilis</i> Zellwand-schlauch	<i>steady state</i> Fluss/Druck-Verhältnis	-	14 · 10 ⁻⁸	Tyree (1968)
		Zelldrucksonde		6,9 · 10 ⁻⁸	Zimmermann und Steudle (1975)
		<i>steady state</i> Fluss/Druck - Verhältnis		5 · 10 ⁻⁸	Kamiya et al. (1962)

Über die spezifische hydraulische Leitfähigkeit der radialen Wände der Endodermis sind dem Autor keine Angaben bekannt. Da sie weit geringer veranschlagt werden muss als die spezifische hydraulische Leitfähigkeit der Parenchymzellwände, würde ein signifikanter apoplastischer Strömungsweg durch diese Wände spezielle apoplastische Kanäle voraussetzen, die bisher nicht nachgewiesen wurden. Unbestreitbar aber ist die Funktion der Endodermis als Barriere, welche die passiven apoplastischen Teilchenflüsse aus dem Medium in

den stelaren Apoplasten und aus dem stelaren Apoplasten in das Medium einschränkt bzw. wirksam kontrolliert (De Rufz de Lavison, 1910, 1911; Priestley, 1920). In dieser Eigenschaft ermöglicht sie die selektive und konzentrierende Beladung der Xylemgefäße mit Nährstoffen des Wurzelmediums und mit Wurzelmetaboliten.

1.1.4 Das *steady state* der osmotisch bedingten Xylemsaft-Exsudation

In Abwesenheit von äußeren Kräften und selbst bei beträchtlichem Gegendruck kommt es zu einem andauernden durch die Wurzel getriebenen Saftstrom (Hales, 1727). Die überzeugendste Erklärung für dieses Phänomen besteht in der hydraulischen Wirkung des osmotischen Druckes des Xylemsaftes an der semipermeablen Membran, die durch den Kortex und das lebende Gewebe der Stele gebildet wird (Dutrochet, 1837; Priestley, 1920, 1922; Blackman, 1921; Sabinin, 1925; Heyl, 1933; Crafts und Broyer, 1938; Eaton, 1943; Broyer, 1947a, b; Ray, 1960; Pitman, 1977). Um die Saftströmung auf Dauer zu gewährleisten, muss der osmotische Druck des Xylemsaftes durch ständige Abgabe von gelösten Stoffen aus dem Symplasten in die Gefäße aufrechterhalten werden (Priestley, 1922). Die Triebkraft für den radialen Wasserfluss wird nach der weitgehend anerkannten osmotischen Hypothese durch die absolute Wasserpotenzialdifferenz zwischen dem Medium und den Gefäßen gebildet. Wie bereits in Abschnitt 1.1.2 angedeutet, können die osmotisch wirksamen Stoffe welche in das Xylem abgegeben werden, dem Medium oder dem Symplasten entnommen werden. Die Aufrechterhaltung des radialen osmotischen Gradienten erfordert die Kopplung an den Energiestoffwechsel des Symplasten, welche durch die Hemmbarkeit mit Stoffwechsellinhibitoren eindrucksvoll belegt wurde (Pitman et al., 1981). In Übereinstimmung mit Theorie von Crafts und Broyer (1938) kommt es zu einer in der Regel sekundär aktiven Aufnahme der Osmolyte (meist Ionen) über die gesamte Oberfläche des kortikalen Symplasten, während die Exkretion der xylemmobilen Nährionen und Metaboliten (unter anderem Aminosäuren, Säureamide, Ureide) in die Gefäße bzw. den stelaren Apoplasten passiv erfolgen kann. Bei Stoffen welche im Xylem ein höheres chemisches Potenzial als im Zytoplasma besitzen, wäre eine stoffwechselabhängige Abgabe in den stelaren Apoplasten notwendig. Der einzige dem Autoren bekannte Xylemsaftbestandteil, für den dies zweifelsfrei feststeht, sind die Protonen, deren Konzentration für den osmotischen Druck nicht relevant ist. Falls radialer Calciumtransport auf dem symplastischen Weg stattfindet, ist der Transport dieser Ionen ebenfalls ohne Zweifel primär oder sekundär aktiv.

Die Beobachtung, dass der stationäre Volumenfluss exsudierender Wurzeln oder Wurzelsysteme nicht immer linear von der Differenz des osmotischen Druckes zwischen dem an der Basis der Wurzel abgegebenen Xylemsaft und dem Medium oder dem Teilchenfluss abhängt, wurde als Beweis für die Beteiligung eines nicht-osmotischen Wasserflusses betrachtet (Overbeek, 1942; House und Findlay, 1966b; Ginsburg und Ginzburg, 1971). Bei dieser Argumentation bleibt unberücksichtigt, dass sich die Xylemsaftkonzentration wichtiger Osmolyte auf dem Weg durch die Wurzel ändern kann und die Orte der Wasseraufnahme nicht mit denen der Teilchenexkretion in das Xylem übereinstimmen müssen.

Wie bereits von Priestley (1922) festgestellt wurde, ist ein kontinuierlicher Stofffluss in die Gefäße notwendig, um die Verdünnung des Xylemsaftes durch den Volumenfluss zu kompensieren. Für die quantitative Beschreibung der Kopplung zwischen dem Teilchenfluss in die Xylemgefäße und dem Wasserfluss bietet sich die an tierischen Epithelien entwickelte Theorie des stationären osmotischen Gradienten (*standing osmotic gradient*) an (Diamond und Bossert, 1967). Sie wurde von Anderson et al. (1970) auf die Exsudation von Xylemsaft durch Wurzeln angewendet. Im Fließgleichgewicht können die zeitlichen Änderungen der radialen Teilchenflüsse und der radialen Volumenflüsse vernachlässigt werden, und der osmotische Druck des abgegebenen Xylemsaftes ist dem Produkt aus dem integralen Volumenfluss und dem integralen molaren Nettofluss der Teilchen proportional. Die Osmolarität des aus einem einseitig geschlossenen, druckfreien, membranbegrenzten Kapillarsystem mit gerichtetem radialen Teilchenfluss (z.B. interzelluläre Tubuli, Xylemgefäße) exsudierten Saftes hängt entsprechend der *standing osmotic gradient*-Theorie im einfachsten Fall von fünf Parametern ab: der Länge und dem Durchmesser der membranbegrenzten Kapillaren, der radialen hydraulischen Leitfähigkeit der Membran, der Rate der Teilchenexkretion in das Lumen und der radialen diffusiven Permeabilität der Membran. Beispielsweise folgt aus dieser Theorie, dass auch ohne spätere Reabsorption der Osmolyte aus den Gefäßen ein mit dem Medium nahezu isotonomischer (jedoch kein hypotonischer) Xylemsaft austreten könnte, wenn die Teilchenexkretion auf die Spitzenregion begrenzt wäre.

1.1.5 Der radiale Reflexionskoeffizient der Wurzel und Möglichkeiten zu seiner experimentellen Bestimmung

1.1.5.1 Physikalische Grundlagen

Ist die Membran einer osmotischen Zelle für den Osmolyten permeabel, bedeutet die Abwesenheit des Volumenflusses nicht, dass ein osmotisches Gleichgewicht vorliegt. In diesem Fall liegt bei Volumenkonstanz ein Fließgleichgewicht vor, bei dem die Entropie

durch einen diffusiven Teilchenfluss (J_s) vermehrt wird und der hydrostatische Gegendruck, der den osmotisch bedingten Wasserfluss verhindert, kann kleiner sein als die Differenz des osmotischen Druckes. Staverman (1951) bezeichnete das Verhältnis zwischen einer hydrostatischen Druckdifferenz und einer osmotischen Druckdifferenz, welche die hydrostatische Druckdifferenz hydraulisch kompensiert, als Reflexionskoeffizienten (σ). Dieser Parameter charakterisiert die Selektivität des Wasserflusses durch eine Membran. Er ist kleiner als eins, wenn Lösungsmittelflüsse und Teilchenflüsse in den gleichen Poren oder Kanälen stattfinden können.

Entsprechend der von Kedem und Katchalsky (1958) durchgeführten Analyse der Kopplung zwischen Diffusion und Strömung durch eine für den Osmolyten permeable Membran können die unter verschiedenen Grenzbedingungen messbaren Volumen- und Teilchenflüsse reproduzierbar durch Differenzen des hydrostatischen und osmotischen Druckes und einen Satz von drei Koeffizienten beschrieben werden, wenn es außer den Druck- und Konzentrationsgradienten keine weiteren Triebkräfte für den Teilchen- oder Volumenfluss gibt. Diese Parameter sind: die hydraulische Leitfähigkeit (L_P), der Koeffizient für die diffusive Permeabilität (ω) und der Reflexionskoeffizient (σ). Die Parameter sind Kopplungskoeffizienten im Sinne der Thermodynamik irreversibler Prozesse und daher unabhängig von den Permeationsmechanismen für den Osmolyten und das Lösungsmittel (z.B. Wasser) definiert. Sie bringen die Interaktion der Flüsse untereinander und mit ihren Triebkräften quantitativ zum Ausdruck. Ihre Bestimmung ist für jede Membran sinnvoll, in der ein Konzentrationsgradient einen Volumenfluss bewirkt, also auch für komplexe Membranen wie Plasmamembran oder Gewebsmembranen in lebenden Organismen. Werden sie jedoch zur Beschreibung osmotischer Prozesse in den Membranen lebender Organismen eingesetzt, sollte zuvor geprüft werden, ob direkte Wechselwirkungen der betrachteten Teilchen- oder Volumenflüsse mit weiteren Prozessen (z.B. chemischen Reaktionen oder elektrischem Strom) vernachlässigbar sind, so dass sie von deren Triebkräften (z.B. der chemischen Reaktionsenthalpie oder der elektrischen Potenzialdifferenz) nicht abhängig sind.

Die von Kedem und Katchalsky (1958) vorgenommene Definition des diffusiven Austauschflusses J_D vereinfacht die Anwendung der Onsager'schen Theorie der Kopplung irreversibler Prozesse auf die Osmose an nicht ideal semipermeablen Membranen (Onsager, 1931) und führte zur Definition des Reflexionskoeffizienten auf der Grundlage der Thermodynamik irreversibler Prozesse (vergl. Glaser, 1996). Der diffusive Austauschfluss ist nicht identisch mit dem Teilchenfluss des Osmolyten durch die Membran, sondern

entspricht der Differenz zwischen dem Volumenfluss durch die Membran und der Durchschnittsgeschwindigkeit der diffundieren Teilchen in der Membran. Der Austauschfluss hat wie der Volumenfluss die Dimension einer Geschwindigkeit. Der Zusammenhang zwischen J_D und J_S , dem diffusiven Teilchenfluss, kann folgendermaßen ausgedrückt werden:

$$J_D = J_v - \frac{J_S}{C}, \quad \bar{C} = \frac{C_{cis} + C_{trans}}{2} \quad (\text{Gl. 1}).$$

Bei einer semipermeablen Membran ($J_S = 0$) ist der Austauschfluss ebenso groß wie der Volumenfluss. Der Volumenfluss ist mit der hydrostatischen Druckdifferenz Δp linear über die hydraulische Leitfähigkeit L_P (Synonym: mechanischer Filtrationskoeffizient) verknüpft. Der Austauschfluss ist linear über den Austauschkoeffizienten L_D mit der Differenz des osmotischen Druckes $\Delta\pi$ verbunden. Die mögliche Wirkung der Differenz des osmotischen Druckes auf den Volumenfluss und der Differenz des hydrostatischen Druckes auf den Austauschfluss wird durch den Ultrafilterkoeffizienten L_{PD} ausgedrückt. L_{PD} ist ein Kreuzkoeffizient. Er koppelt einerseits den Volumenfluss J_v linear an die osmotische Druckdifferenz und andererseits den diffusiven Austauschfluss J_D und die hydrostatische Druckdifferenz (Δp),

$$L_{PD} = \frac{J_v}{\Delta\pi} = \frac{J_D}{\Delta p} \quad (\text{Gl. 2}).$$

Gleichung 2 beruht auf dem Onsager-Prinzip der Thermodynamik irreversibler Prozesse, demzufolge die Kreuzkoeffizienten für zwei konjugierte Entropie generierende Flüsse identisch sind. Der Reflexionskoeffizient σ ist, wie man leicht ableiten kann, mit dem Verhältnis

$$\sigma = \frac{-L_{PD}}{L_P} \quad (\text{Gl. 3}).$$

identisch. Sein Wert charakterisiert die Interaktion des Teilchenflusses mit dem Volumenfluss. Ist die Membran unpermeabel für den Osmolyten und permeabel für das Lösungsmittel, nimmt der Reflexionskoeffizient den Wert 1 an. Ein anderes Ergebnis würde, wie sich leicht zeigen lässt, gegen den ersten Hauptsatz der Thermodynamik verstoßen.

In nichtselektiven Membranen, in denen die Poren so weit sind, dass die Diffusion des Osmolyten allein durch die Viskosität des Lösungsmittels bestimmt wird, bleibt die Differenz des osmotischen Druckes ohne Wirkung auf den Volumenfluss und die hydrostatische Druckdifferenz ohne Wirkung auf den Austauschfluss ($L_{PD} = 0$), so dass auch der Reflexionskoeffizient den Wert 0 annimmt.

Wenn sich Austauschfluss und Volumenfluss unterscheiden, nimmt σ Werte zwischen null und eins an. Aus der Größe des Reflexionskoeffizienten kann jedoch nicht ohne weiteres eine Schlussfolgerung über den Permeabilitätskoeffizienten der Membran für den Osmolyten gezogen werden. Der Reflexionskoeffizient einer Membran für einen Osmolyten kann auch bei einer relativ hohen Permeabilität des Osmolyten näherungsweise den Wert 1 annehmen. Solange der Volumenfluss näherungsweise dem Fluss des Wassers entspricht, weicht der Reflexionskoeffizient nur dann deutlich vom Wert eins ab, wenn Diffusion und Strömung in den gleichen Poren stattfinden (Kedem und Katchalsky, 1958; Kotyk und Janacek, 1977). An Hand der Abweichung des Reflexionskoeffizienten vom Wert eins kann daher erkannt werden, ob ein Teil des Volumenflusses in den gleichen Poren stattfindet wie der Teilchenfluss des Osmolyten.

Es ist seit langer Zeit bekannt, dass der Reflexionskoeffizient der Plasmamembran und der Vakuolenmembran für Osmolyte wie Salze, Zucker, Aminosäuren und ähnliche hydrophile Stoffe nicht signifikant vom Wert eins abweicht, während für kleinere Nicht-elektrolyte wie Methanol und Ethanol Reflexionskoeffizienten deutlich unter eins gemessen wurden (Dainty und Ginzburg, 1964; Zimmermann und Steudle, 1970; Nobel, 1973; Steudle und Tyerman, 1983; Steudle und Brinckmann, 1989; Zimmermann et al., 1992). Wie bereits dargelegt, sind die protoplastischen Radialflüsse der Ionen, die durch spezifische Transporter in der Plasmamembran kontrolliert werden und direkt oder indirekt mit dem Energiestoffwechsel gekoppelt sind, vom radialen Wasserfluss weitgehend unabhängig. Diese radialen Teilchenflüsse besitzen häufig bei sehr niedrigen Teilchenkonzentrationen eine höhere Geschwindigkeit J_s/\bar{C} als der Volumenfluss des Wassers, was beispielsweise in der Abnahme der Konzentration von Kalium- und Nitrationen im Wurzelmedium oder in ihrer Anreicherung im Xylemsaft zum Ausdruck kommt. Da aber solche stoffwechselabhängigen Teilchenflüsse mit dem Wasserfluss nicht mechanistisch gekoppelt sind und ihr Anteil am Volumenfluss vernachlässigt werden kann, sind sie für die Bestimmung des den radialen Wurzelreflexionskoeffizienten nur insofern signifikant, als sie am Aufbau bzw. der Aufrechterhaltung von hydraulisch wirksamen Konzentrationsgradienten beteiligt sind und sie die Differenz des osmotischen Druckes zwischen dem Xylemsaft und dem Medium im osmotischen Fließgleichgewicht sehr schnell ändern können.

Die Größe des radialen Reflexionskoeffizienten einer Wurzel gibt darüber Aufschluss, welchen Anteil ein die Protoplasten auf dem apoplastischen Weg umgehender Wasserfluss am gesamten Volumenfluss hat (vergl. Steudle, 1989, 2000; Steudle und Frensch, 1996; Steudle und Peterson, 1998). Ein wenig selektiver oder unselektiver

Strömungsweg für den Volumenfluss durch den Apoplasten wäre in der Tat anzunehmen, wenn der Wurzelreflexionskoeffizient für Salze und vergleichbare niedermolekulare Stoffe, deren Reflexionskoeffizient an der Plasmamembran annähernd eins ist, deutlich unter diesem Wert läge.

1.1.5.2 Die Bestimmung des radialen Wurzelreflexionskoeffizienten

Im Folgenden werden verschiedene Möglichkeiten, die zur Bestimmung des radialen Reflexionskoeffizienten einer Wurzel grundsätzlich in Betracht kommen, dargestellt.

a) Messung des Wurzeldruckes und der Differenz zwischen dem osmotischen Druck des Xylemsaftes und dem des Mediums

Auf diese Weise kann ein effektiver Wurzelreflexionskoeffizient für den Xylemsaft ermittelt werden, der zahlreiche verschiedene Substanzen enthält. Das Verfahren erfordert es, mit Hilfe eines Manometers, z.B. mit Hilfe der Wurzeldrucksonde, den hydrostatischen Druck des Xylemsaftes zu bestimmen, der sich als konstanter Wert im *steady state* einstellt, und zur gleichen Zeit den osmotischen Druck des unbewegten Xylemsaftes zu erfassen. Es wurde in dieser Form erst kürzlich zum ersten Mal von Knipfer und Fricke (2010) realisiert und ergab für Gerstenwurzeln einen radialen Reflexionskoeffizienten für die Bestandteile des Xylemsaftes von nahe 1. Durch Extrapolation der Abhängigkeit des osmotischen Druckes der Xylemsaftbestandteile von der Stärke des Volumenflusses auf den Volumenfluss null versuchte Miller (1985), den osmotischen Druck des unbewegten Xylemsaftes im osmotischen Fließgleichgewicht abzuschätzen. Der gleichzeitig gemessene Wurzeldruck wurde auf diesen Wert bezogen, um den radialen Reflexionskoeffizienten von Maiswurzelsystemen für die Mischung der Xylemsaftosmolyte zu bestimmen. Der auf diese Weise bestimmte Wert ($\sigma = 0,85$) könnte, wie der Autor vermutet, eine Unterschätzung sein, weil sich kleine Verletzungen der Feinwurzeln schwer vermeiden ließen.

b) Messung der Wurzeldruckänderung nach Änderung des osmotischen Druckes im Medium

In einem membranbegrenzten geschlossenen System, in dem durch eine Differenz des osmotischen Druckes ein hydrostatischer Druck erzeugt wird, wird der osmotische Partialdruck einer Komponente des Mediums verändert und die hierdurch ausgelöste hydrostatische Druckänderung gemessen. Aus ihr kann der Reflexionskoeffizient berechnet werden, ohne dass weitere Messgrößen erforderlich sind, falls die gleichzeitig mit der Druckänderung stattfindende Änderung des inneren osmotischen Druck bekannt oder berechenbar ist. Dieses Verfahren, das aus zahlreichen Arbeiten verschiedener Autoren mit

der von Steudle und Zimmermann (1974) entwickelten Zelldrucksonde bekannt ist, hat den Vorteil, dass es für einzelne definierte Osmolyte eingesetzt werden kann. Die Anwendung der Wurzeldrucksonde zur Messung radialer Volumenflusspermeabilitäten und stoffspezifischer Reflexionskoeffizienten beruht auf Techniken und Konzepten, die bei der Arbeit mit der Zelldrucksonde entwickelt wurden. Die bisher mit diesem Gerät gemessenen Änderungen des hydrostatischen Druckes nach Änderung des osmotischen Druckes im Medium führten mit wenigen Ausnahmen zur Berechnung verhältnismäßig niedriger Wurzelreflexionskoeffizienten. Da dies von grundsätzlicher Bedeutung für die Zielstellung dieser Arbeit ist, wird der Wurzeldrucksonde ein gesonderter Abschnitt (1.1.6) gewidmet.

c) Messung osmotisch und hydrostatisch induzierter Änderungen des *steady state*-Volumenflusses an exsudierenden Wurzelsystemen

Der nach dem Abtrennen des Sprosses messbare Volumenfluss des Xylemsaftes von Angiospermenwurzeln repräsentiert ein Fließgleichgewicht, bei dem die Druckdifferenz als hydraulische Ursache ausgeschaltet oder variiert werden kann (vergl. Abschn. 2.2.1.5). Es liegt nahe, dass aus den Koeffizienten der hydraulischen Wirkung einer osmotischen Druckdifferenz $\Delta J_{v\pi}/\Delta\pi$ und dem entsprechenden Koeffizienten der hydraulischen Wirkung einer hydrostatischen Druckdifferenz $\Delta J_{vp}/\Delta p$ der Reflexionskoeffizient der Wurzel berechnet werden kann. Da inzwischen für die Mikroanalytik sehr leistungsfähige Fluss-Sensoren entwickelt wurden, wurde diese Möglichkeit im Rahmen dieser Arbeit untersucht.

d) Vergleich der initialen hydraulischen Wirkung von permeablen und unpermeablen Osmolyten

Dieses Verfahren wurde vor Beginn der Arbeiten zu diesem Promotionsvorhaben noch nicht zur Messung des Wurzel-Reflexionskoeffizienten eingesetzt. Es wurde von Kedem und Katchalsky (1958) ausführlich kommentiert und in der Vergangenheit auf die Plasmamembran(en) in Verbindung mit der Plasmolysetechnik häufig angewendet, um Reflexionskoeffizienten kleiner permeabler Osmolyte wie Methanol und Ethylenglykol zu bestimmen (Nobel, 1973). Es wurde auch schon erfolgreich zur Messung des Reflexionskoeffizienten von tierischen Epithelien (Wright und Diamond, 1969) und mehrschichtigen homogenen Parenchymfilterscheiben (Michael et al., 1997) eingesetzt. Das Verfahren basiert darauf, dass der Absolutwert des Ultrafilterkoeffizienten einer Membran L_{PD} für unpermeable Osmolyte mit der hydraulischen Leitfähigkeit L_P identisch ist. Hieraus ergibt sich, dass der Reflexionskoeffizient der Membran für den permeablen Osmolyten der Quotient zwischen dem Ultrafilterkoeffizienten der Membran für den permeablen Osmolyten (Index p) und

dem für den unpermeablen Osmolyten (Index u) ist. Werden osmotisch bedingte Flüsse oder Flussänderungen an der gleichen Membran gemessen werden, gilt

$$\sigma = \frac{-L_{PD}}{L_P} = \frac{L_{PD}^p}{L_{PD}^u} = \frac{\Delta J_v^p}{\Delta J_v^u} \frac{\Delta \pi^u}{\Delta \pi^p} \quad (\text{Gl. 4}).$$

Um diese Beziehung auf den osmotisch getriebenen Xylemsaftfluss an einer Wurzel anzuwenden, ist es erforderlich, den initialen hydraulischen Effekt beider Osmolyte auf den Volumenfluss zu messen, da sowohl die Veränderung des Volumenflusses als auch der Teilchenfluss des permeablen Osmolyten nach kurzer Zeit die osmotische Triebkraft verändern kann.

d) Messung der Flussänderung nach Überführung der Wurzel aus dem Medium eines unpermeablen Osmolyten in ein isotonisches Medium eines permeablen Osmolyten

Wenn man von einem Fließgleichgewicht mit dem Volumenfluss 0 ausgeht, bei dem der durch die Xylemsaftbestandteile induzierte Volumenfluss durch den osmotischen Druck des Mediums kompensiert wird, und anschließend der unpermeable Osmolyt gegen einen permeablen austauscht wird, sollte nach dem erfolgten Wechsel ohne Verzögerung eine Änderung des Volumenflusses festgestellt werden, wenn der Reflexionskoeffizient des permeablen Osmolyten σ deutlich vom Wert 1 abweicht. Aus dem Anfangswert dieses Flusses könnte σ nach der folgenden Gleichung

$$J_v = L_P (1 - \sigma) \pi \quad (\text{Gl. 5})$$

bestimmt werden. Das Fehlen einer so induzierten unverzögerten Flussänderung würde anzeigen, dass der radiale Reflexionskoeffizient der Wurzel für den permeablen Osmolyten nicht signifikant vom Wert 1 abweicht. Allerdings wird die Anwendung dieses Verfahren an den Wurzeln dadurch erschwert, dass ein isotonischer Austausch von Osmolyten an den kortikalen Plasmamembranen nicht ohne diffusionsbedingte Verzögerungen möglich ist.

e) Zunahme des radialen Teilchenflusses eines permeablen Osmolyten bei der Steigerung des Volumenflusses (Erfassung von *solvent drag*)

Wird der Volumenfluss des Wassers durch eine Membran gesteigert, kommt es zu einer Steigerung des Teilchenflusses des Osmolyten, wenn letzterer in den gleichen Poren wie der Volumenfluss stattfindet. Diese als *solvent drag* bezeichnete Steigerung des Teilchenflusses durch den Volumenfluss wird durch die Größe des Reflexionskoeffizienten und die mittlere Konzentration der Teilchen in der Membran bestimmt (Kedem und Katchalsky, 1958) und kann dementsprechend zu seiner Bestimmung herangezogen werden

$$\frac{dJ_s}{dJ_v} = (1 - \sigma) \bar{C} \quad (\text{Gl. 6}).$$

Bei der Anwendung dieses Verfahren zur Bestimmung des Reflexionskoeffizienten des Maiswurzelkortex (Ginsburg und Ginzburg, 1970a, b) ergab sich keine messbare Abweichung vom Wert eins für den radialen Reflexionskoeffizienten isolierter Kortex-Hülsen für niedermolekulare Osmolyte (Mannitol, Salze), obwohl die Endodermis bei der Herstellung der Kortexpräparate (*sleeves*) durch Ablösung und Herausziehen der Stele zerstört wurde. Michael et al. (1997) fanden ebenfalls keinen *solvent drag* für Mannitol beim Volumenfluss durch Parenchym Scheiben des Kartoffelmarks. Bei den genannten Arbeiten wurde der Volumenfluss durch den osmotischen Gradienten polymerer Osmolyte erzeugt, die nicht nur an der Plasmamembran, sondern auch an den Zellwänden hydraulisch wirken. Bei der Analyse der *solvent drag*-Wirkung auf den radialen Teilchenfluss eines Osmolyten durch die Wurzel muss deren komplexer Aufbau in Betracht gezogen werden. Besteht eine Kompositmembran aus mehreren Phasen, in denen der Teilchen- und Wasserfluss stattfinden kann, erzeugt nur der Teil des Volumenflusses, der in den gleichen Kanälen wie der Teilchenfluss J_s stattfindet, einen *solvent drag*. Allerdings kann der Teilchenfluss auch dann durch den Volumenfluss beeinflusst werden, wenn beide Flüsse getrennt voneinander in unterschiedlichen Phasen der Membran stattfinden. Dies ist dann der Fall, wenn der Volumenfluss die Konzentrationsdifferenz des Osmolyten beeinflusst. Diese indirekte Kopplung zwischen Volumenfluss und Teilchenfluss wird als *pseudo solvent drag* (Barry und Diamond, 1984) bezeichnet. Die Ausbildung signifikanter Schichten mit merklicher Konzentrationserhöhung niedermolekularer Osmolyte vor der Rhizodermis ist bei Volumenflüssen unter $10 \mu\text{m s}^{-1}$ im intensiv gerührten Medium nicht möglich. Radiale Konzentrationsgradienten können, wie sich leicht zeigen lässt, innerhalb der engen Xylemgefäße ebenfalls nicht entstehen. Allerdings kann bei einem schwachen Volumenfluss die radiale Permeation des Osmolyten dazu führen, dass im Fließgleichgewicht die Konzentration des Osmolyten im Xylemsaft im Vergleich zu derjenigen des Mediums einen signifikanten Wert erreicht. Hierdurch wird die radiale Differenz des osmotischen Druckes reduziert, was sich negativ auf den Teilchenfluss, aber positiv auf den hydrostatisch erzeugten Volumenfluss auswirkt. Auch wenn es keinen echten *solvent drag* gibt, d.h. der Reflexionskoeffizient nahe 1 ist, steigt ein diffusiver radialer Teilchenfluss mit stärker werdendem Volumenfluss solange an, bis die Konzentration der Teilchen im strömenden Xylemsaft sich dem Wert null nähert. Dies muss als *pseudo solvent drag* bezeichnet werden, denn der Anstieg des Teilchenflusses mit zunehmendem Volumenfluss beruht nicht auf der

mechanistischen Kopplung beider Flüsse in der Membran, sondern auf der Wirkung des Volumenflusses auf den Konzentrationsgradienten. Bei echtem *solvent drag* würde der Teilchenfluss mit dem Volumenfluss entsprechend Gleichung 6 bei konstantem Konzentrationsgradienten linear ansteigen. Daher könnte die Konzentration des betrachteten Osmolyten im Xylemsaft C_x nicht unter einen bestimmten Bruchteil der Außenkonzentration C_0 absinken. Wie sich leicht zeigen lässt, wird dieser Bruchteil, der Verteilungskoeffizient $\chi = C_x/C_0$, bei hohen Werten des Volumenflusses annähernd konstant und entspricht dann dem Wert $(1 - \sigma)$. Munns (1985) fand bei der Untersuchung der Abhängigkeit der radialen Permeation von NaCl an Gerstenwurzeln vom radialen Volumenfluss, dass der Salzeinstrom in die Gefäße mit zunehmender Stärke des radialen Volumenflusses zunächst anstieg, wobei die Konzentration der Natrium- und Chloridionen im Xylemsaft abnahm. Bei starken Volumenflüssen wurde die Salzkonzentration im Xylemsaft im Verhältnis zur Konzentration im Medium vernachlässigbar klein und der Salzeinstrom in die Gefäße wurde vom Volumenfluss unabhängig. Aus der so gezeigten Abwesenheit des echten *solvent drag* leitete die Autorin ab, dass die Radialtransporte des Wassers und des Salzes in den untersuchten Wurzeln nicht miteinander gekoppelt sind und der Wurzelreflexionskoeffizient für NaCl einen Wert von annähernd eins besaß.

1.1.6 Kinetische Probleme bei der Anwendung der Wurzeldrucksonde

Mit der Wurzeldrucksonde (Steudle, 1989; Steudle und Frensch, 1989; Steudle und Heydt, 1997; Steudle und Peterson, 1998; Steudle, 2000; und andere) wurden wie bei der zuvor eingeführten Zelldrucksonde die radiale hydraulische Leitfähigkeit (L_P) und der radiale Reflexionskoeffizient (σ) bestimmt, ohne die Teilchenflüsse (J_s) oder die Konzentrationsdifferenz des Osmolyten direkt zu messen. Es wurde allerdings nicht geprüft, ob alle für die Beschreibung der Turgoränderungen an Pflanzenzellen gegebenen Voraussetzungen auch für die Änderungen des Wurzeldruckes gelten.

Die Zelldrucksonden-Technik verbindet die geringe Volumenkapazität und die hohe Zeitauflösung von Halbleiter-Drucksensoren mit der Möglichkeit zur Messung sehr kleiner Volumenverschiebungen in Mikrokapillaren. Sie ermöglicht es, die Änderung des Turgordruckes einer Zelle nach einer Änderung der hydrostatischen oder osmotischen Wasserpotenzialdifferenz aufzuzeichnen. Die Glas-Mikrokapillare, die an die Manometerkammer der Drucksonde angeschlossen ist, wird mit einer sehr feinen Spitze in die Vakuole einer turgeszenten Zelle eingeführt. Die Zelldrucksonde ist messbereit, wenn Tonoplast und

Plasmamembran dicht mit der Mikrokapillare abschließen. Bei der Messung des Turgordruckes wird die geringe elastische Volumenkapazität der Messapparatur durch Justierung des Öl-Wasser-Meniskus mechanisch kompensiert. Die mit der Druckänderung verbundene Volumenänderung der Zelle wird mit der Zelldrucksonde an der Verschiebung des Öl-Wasser-Meniskus in der Glas-Mikrokapillare bestimmt und bei der Berechnung der Parameter berücksichtigt (Zimmermann und Steudle, 1974). Auf Grund des hohen Volumenelastizitätsmoduls der turgeszenten Pflanzenzelle ändert sich die Zellsaftkonzentration bei der Messung der Druckänderung nur wenig. Aus der Änderung des Turgordruckes nach einer definierten Änderung des osmotischen Druckes im äußeren Medium kann der Reflexionskoeffizient der Membranbarriere zwischen der Vakuole und dem äußeren Medium genau bestimmt werden (vergl. Abschnitt 1.1.5.2), ohne dass der osmotische Druck des Zellsaftes gemessen werden muss. Eine notwendige Voraussetzung für dieses Verfahren besteht darin, dass die Druckänderung so schnell abgeschlossen ist, dass Änderungen des osmotischen Druckes in der Vakuole durch Osmoregulation und passive Permeation des Osmolyten vernachlässigbar sind. Diese Voraussetzung ist wegen der hohen hydraulischen Leitfähigkeit der Plasmamembranen in der Regel erfüllt. Die hohe Empfindlichkeit und die hohe Zeitauflösung der Druck- und Volumenflussmessung mit der Zelldrucksonde ermöglichten es, die hydraulische Leitfähigkeit L_P der Plasmamembran im physiologischen (turgeszenten) Zustand selbst bei relativ kleinen Zellen mit hohem Volumenelastizitätsmodul der Zellwand, in welchen sich das Wasserpotenzialgleichgewicht in wenigen Sekunden einstellt zu erfassen.

Die Messung der hydraulischen Leitfähigkeit L_P der Plasmamembran pflanzlicher Zellen beruht auf der sogenannten Druckrelaxation. Durch Verschieben eines Metalldrahtes im Manometerraum mit einer Mikrometerschraube wird das Zellvolumen um einen sehr kleinen Betrag sehr schnell verändert, was eine messbare initiale Turgoränderung hervorruft. Danach stellt sich in einem Relaxationsprozess erster Ordnung ein neues (gleichgewichtsnahes) *steady state* mit dem Volumenfluss null ein. Wegen der notwendigen Homöostase des Protoplas mavolumens wird im Allgemeinen davon ausgegangen, dass die Plasmamembran und nicht die Vakuolenmembran die entscheidende Barriere für den Volumenfluss darstellt (Maurel, 1997; Barrieu et al., 1998). Aus der Geschwindigkeitskonstante der Druckrelaxation, der Zelloberfläche, dem Zellvolumen und dem ebenfalls mit der Zelldrucksonde messbaren Volumenelastizitätsmodul der Zelle kann die hydraulische Leitfähigkeit der Membranen von turgeszenten Zellen genau bestimmt werden (Steudle und Zimmermann, 1974). Wird anstelle des hydrostatischen Druckes der osmotische Druck des

Mediums geändert, ist die Geschwindigkeit der Einstellung des neuen osmotischen Gleichgewichtes durch die unvermeidliche Mischungs- und Diffusionszeit verzögert. Für die Bestimmung des Reflexionskoeffizienten der Plasmamembran aus dem Endwert der Druckänderung ist dies von geringer Bedeutung. Mit Hilfe der Zelldrucksonde bestimmte Reflexionskoeffizienten der Plasmamembran pflanzlicher Zellen für Salze und Nichtelektrolyte kommen dem Wert eins nahe (Steudle und Zimmermann, 1974; Steudle, 1993). Dies bestätigt die zuvor mit anderen Techniken schon gut belegte Tatsache, dass die Reflexionskoeffizienten der Membranen pflanzlicher Zellen ebenso wie diejenigen tierischer Zellen für Salze und Nichtelektrolyte mit mehr als zwei polaren Gruppen dem Wert eins nahekommen (Dainty und Ginzburg, 1964; Diamond und Wright, 1969; Wright und Diamond, 1969).

Arbeiten mit der Wurzeldrucksonde wurden überwiegend mit unverzweigten Apikalsegmenten der Wurzeln verschiedener Getreidepflanzen oder der Zwiebel durchgeführt (Steudle und Jeschke, 1983; Steudle et al., 1987; Steudle und Frensch, 1989; Zhu und Steudle, 1991; Peterson et al., 1993; Melchior und Steudle, 1993; Steudle und Brinckmann, 1989). Nur in wenigen Fällen wurden verzweigte Wurzelsysteme der Eiche (Rüdinger et al., 1994; Steudle und Meshcheryakov, 1996; Steudle und Heydt, 1997) und junger Maispflanzen (Liu et al., 2009) an die Wurzeldrucksonde angeschlossen. In der Regel wird die Basis der abgeschnittenen Wurzel über eine flüssigkeitsgefüllte (Glas-)Kapillare, in der sich der Öl/Wasser-Meniskus befindet, mit dem Drucksondenraum verbunden. Aus Kontrollexperimenten ging hervor, dass bei dem Dichtungsprozess die Gefäße offen bleiben (Steudle und Brinckmann, 1989; Steudle und Frensch, 1989; Peterson und Steudle, 1993). Die Dichtheit der Verbindung zwischen Wurzel und Apparatur wurde dadurch angezeigt, dass bei der Erhöhung des Dichtungsdruckes der Wurzeldruck nicht mehr weiter anstieg. Nachdem der Wurzeldruck einen stationären Wert erreicht hat, wird zur Druckapplikation das Manometervolumen durch definiertes Einführen oder Herausführen eines Metalldrahtes reduziert oder erhöht. Eine so bewirkte anfängliche Erhöhung des hydrostatischen Druckes, die „exosmotische Druckapplikation“ wird durch elastische Volumenänderungen und anschließend durch den Volumenfluss des Wassers abgebaut („exosmotische Druckrelaxation“), wobei sich der Wurzeldruck dem Ausgangswert nähert. Analog kann bei initialer Druckreduktion („endosmotische Druckapplikation“) die Erholung des Wurzeldruckes bis zu einem konstanten Wert aufgezeichnet werden. Aus der Relaxationskinetik wird wie bei Anwendung der Zelldrucksonde die sogenannte „hydrostatische hydraulische

Leitfähigkeit der Wurzel ($L_{P(hydr)}$)“ bestimmt, wobei als Bezugsgröße die äußere Wurzeloberfläche eingesetzt wird.

Wird der osmotische Druck des Mediums durch den Wechsel des Mediums oder die Zugabe einer definierten Menge des Osmolyten verändert, kann die osmotisch bedingte Druckrelaxation aufgezeichnet werden. Aus der Geschwindigkeitskonstante dieses Prozesses wird ebenfalls eine Volumenflussleitfähigkeit bestimmt. Sie wird als „osmotische hydraulische Leitfähigkeit ($L_{P(osm)}$)“ bezeichnet (Steudle und Frensch, 1989; Steudle et al., 1993; Steudle und Peterson, 1998; Steudle, 2000). Dieser Wert ist nicht mit dem Ultrafilterkoeffizienten L_{PD} identisch, weil sich während der „osmotischen Druckrelaxation“ sowohl die radiale Druckdifferenz als auch die radiale Differenz des osmotischen Druckes ändern. Der radiale Reflexionskoeffizient der Wurzel für einen bestimmten Osmolyten wird wie bei der Anwendung der Zelldrucksonde auf eine turgeszente Zelle aus der maximalen Änderung des Wurzeldruckes nach einer definierten Änderung des osmotischen Potentials im Medium berechnet. Die in verschiedenen Untersuchungen für die Maiskeimwurzel mit der Wurzelldrucksonde bestimmten Parameter $L_{P(hydr)}$ und $L_{P(osm)}$ waren in quantitativer Hinsicht nicht gut reproduzierbar, wie aus den Angaben von Steudle und Koautoren hervorgeht (Steudle und Frensch, 1989; Steudle et al., 1993; Steudle und Peterson, 1998; Steudle, 2000). Die radialen Reflexionskoeffizienten der Wurzeln für Salze und Nicht-elektrolyte waren in der Regel deutlich kleiner als eins (Steudle und Jeschke, 1983; Steudle et al., 1987; Steudle und Brinckmann, 1989; Steudle und Frensch, 1989; Zhu und Steudle, 1991; Melchior und Steudle, 1993; Peterson et al., 1993; Rüdinger et al., 1994; Steudle und Meshcheryakov, 1996; Steudle und Heydt 1997). Dies gilt sogar für den Wurzelreflexionskoeffizienten von polymeren Osmolyten wie PEG 6000 (Steudle et al., 1987; Zhu und Steudle, 1991), deren Radialtransport vernachlässigbar klein ist (vergl. Lawlor, 1970) und die nicht durch Parenchymzellwände permeieren (Michael et al., 1997). Sehr merkwürdig ist, dass das Verhältnis von $L_{P(osm)}$ zu $L_{P(hydr)}$ der Maiswurzel stets noch viel geringer war als σ . Trotz dieser Widersprüche wurde aus dem Unterschied zwischen $L_{P(hydr)}$ und $L_{P(osm)}$ einerseits und den relativ niedrigen Werten für σ andererseits der weitreichende Schluss gezogen, dass ein beträchtlicher Teil des radialen Volumenflusses auf einem apoplastischen Weg (*bypath*) die Plasmamembranen umgeht (Übersicht in Steudle und Peterson, 1998; Steudle, 2000). In neueren Arbeiten wurde eine Diskussion zur Überschätzung der hydraulischen Leitfähigkeit nach Druckrelaxationen (Bramley et al., 2007) bzw. deren Unterschätzung bei Nutzung der *pressure clamp*-Methode (Druckhaltungsmethode) auf Grund eines internen *unstirred layer*-Effekts (Knipfer et al., 2007; Knipfer und Steudle, 2008)

geführt. Dies unterstreicht die Interpretationsprobleme hinsichtlich der Ergebnisse von Druckrelaxationsexperimenten mit der Wurzeldrucksonde.

Wenn man die Frage stellt, ob das methodische Vorgehen zur Messung von L_P und σ mit der Zelldrucksonde auf die komplexe und im Vergleich zum Gefäßvolumen sehr ausgedehnte Gewebsmembran in einem Wurzelspitzensegment übertragen werden kann, sollten vor allem zwei Voraussetzungen überprüft werden, welche bei der bisherigen Deutung der Ergebnisse impliziert wurden:

- a) die untersuchte Kompositmembran muss sich annähernd konservativ hinsichtlich der radialen Volumen- und Teilchenflüsse verhalten, daher der Wurzelsymplast darf keine Quelle für die Flüsse in die Xylemgefäße oder das Medium sein und er darf nicht einen Teil der Flüsse aufnehmen,
- b) während der osmotisch bedingten Relaxation des Wurzeldruckes muss die Änderung des osmotischen Druckes des Xylemsaftes berechenbar sein, da zur Berechnung des Reflexionskoeffizienten die Größe der radialen Differenz des osmotischen Druckes im neuen Fließgleichgewicht benötigt wird.

Im Unterschied zu Biomembranen ist die Kompositmembran, die durch die Wurzelgewebe repräsentiert wird, weder für den Teilchenfluss noch für den Volumenfluss konservativ. Es erfolgt eine intensive Xylembeladung mit Elektrolyten und Aminosäuren aus den verschiedenen Pools des Wurzelsymplasten, selbst wenn im Medium kein Substrat für den Membrantransport angeboten wird. Die einseitig verschlossene Kapillarmembran, die durch das lebende Gewebe zwischen den Xylemgefäßen und dem Medium repräsentiert wird, hat im Fall der Maiswurzel ein Volumen, welches das axial bewegliche Volumen der Xylemgefäße um mehr als das 20-fache übersteigt. Hiervon kann man sich leicht überzeugen, wenn man den Flächenanteil der frühen Metaxylemgefäße (Radius etwa 5 μm), die in den untersuchten Apikalsegmenten der Maiswurzel allein für den Axialtransport zuständig sind, mit der Fläche der peripheren Gewebe der Stele und des Kortex vergleicht. Selbst wenn die Zufuhr des Phloemsaftes nach Abtrennen des Wurzelsegmentes unterbunden ist, finden Flüsse zwischen dem Symplasten und den engen Xylemgefäßen statt, die den osmotischen Druck des Xylemsaftes osmoregulatorisch beeinflussen. Die durch Applikation eines Osmolyten im Medium bedingte Änderung des Wurzeldruckes benötigte bei Maiswurzeln wesentlich mehr Zeit als die Änderung des Turgordruckes von lebenden Zellen. Sie war erst nach 15 bis 40 min beendet. Wegen der großen Oberflächen/Volumen-Relation der frühen Metaxylemgefäße erscheint es unbegründet, osmoregulatorisch wirkende Teilchenflüsse (Exkretion von zelleigenen Osmolyten durch die Xylem-

parenchymzellen und Leckflüsse aus dem stelaren Apoplasten) im Verlauf so langer Zeiten für vernachlässigbar zu halten.

Beim Wasserpotenzialausgleich auf dem Weg durch die Protoplasten verlaufen wegen des relativ großen Volumens des Symplasten zwei nichtsynchrone Prozesse, welche die Kinetik der Druckrelaxation bestimmen:

- a) der Volumenfluss zwischen dem Xylem und den Protoplasten der Stele,
- b) der Volumenfluss zwischen den Protoplasten des Kortex und dem äußeren Medium.

Die Zeitverschiebung zwischen diesen Prozessen könnte vernachlässigt werden, wäre die Volumenänderung des Wurzelgewebes klein gegenüber dem Gesamtfluss. Dies ist jedoch nicht immer der Fall, wie am Beispiel von apikalen Maiswurzelsegmenten gezeigt werden soll. Das aufgezeichnete Volumenflussintegral wird bei der exosmotischen oder endosmotischen Druckapplikation durch die elastische Volumenkapazität der Messvorrichtung (vor allem diejenige des Drucksensors) bestimmt, deren Größe zwischen 10 und 140 nl bar⁻¹ liegt. Die elastische Volumenkapazität der frühen Metaxylemgefäße, in denen der Volumenfluss stattfindet, ist im Vergleich hierzu vernachlässigbar klein (Steudle und Jeschke, 1983; Steudle et al., 1987). Um die elastische Volumenkapazität des turgeszenten Wurzelgewebes abzuschätzen, soll ein 5 cm langes apikales Maiswurzelsegment mit einem durchschnittlichen Volumenelastizitätsmoduls des turgeszenten Gewebes von 500 bar und einem Volumen 25 mm³ betrachtet werden. Die durchschnittliche elastische Volumenkapazität des Symplasten dieses Wurzelsegmentes (ca. 68 nl bar⁻¹) ist gegenüber der elastischen Volumenkapazität des Manometerraumes nicht vernachlässigbar. Daraus folgt, dass die initiale Relaxation des Manometerdruckes keineswegs allein durch den Radialfluss bestimmt wird. Die elastische Volumenkapazität des extrafaszikulären Gewebes führt dazu, dass bei der hydrostatischen Druckrelaxation die Druckänderung im Xylem schneller abklingt als der Radialfluss an der Wurzeloberfläche. Umgekehrt wird bei der Applikation einer osmotischen Kraft im Medium die Änderung des hydrostatischen Druckes in den Gefäßen verzögert. Dies kann zumindest teilweise erklären, warum die mit der Wurzel-drucksonde bestimmte „osmotische hydraulische Leitfähigkeit“ wesentlich geringer ist als die mit dem gleichen Instrument bestimmte „hydrostatische hydraulische Leitfähigkeit“. Diese Effekte würden nicht ins Gewicht fallen, wenn die elastische Volumenkapazität der Messvorrichtung weit größer wäre als diejenige der Wurzelzellen. Während also bei der Zelldrucksonde die geringe Volumenkapazität der Messvorrichtung als Vorteil zu betrachten ist, ist sie für die Erfassung der radialen hydraulischen Leitfähigkeit mit der Wurzel-drucksonde problematisch. Leider ist die Vergrößerung der Volumenelastizität der Mess-

vorrichtung auch keine optimale Lösung der genannten Probleme, weil dies die Halbwertszeit vergrößern würde und die bestimmten Parameter noch stärker von den nicht erfassten Teilchenflüssen zwischen dem Symplasten und den Gefäßen beeinflusst würden.

Die Bestimmung des Reflexionskoeffizienten für den radialen Volumenfluss, bei der die maximale Änderung des Wurzeldruckes in Beziehung zur Änderung des osmotischen Druckes im Medium gesetzt wird, ist von den geschilderten kinetischen Komplikationen nicht betroffen, weil sie auf dem Endwert der osmotisch bedingten Druckänderung beruht. Wird allerdings der Reflexionskoeffizient allein auf Grund der osmotisch herbeigeführten Änderung des Wurzeldruckes berechnet, ist der Einfluss osmoregulatorischer Teilchenflüsse zwischen dem Symplasten und den Xylemgefäßen auf den osmotischen Druck der Xylemgefäße nicht auszuschließen. Bei konstantem Wurzeldruck ist der Netto-Teilchenfluss in die Xylemgefäße ebenso wie der Volumenfluss gleich null. Dabei handelt es sich aber nicht um ein osmotisches Gleichgewicht, sondern um ein Fließgleichgewicht, bei dem diffusive Leckflüsse von Osmolyten aus der Stele in den Kortex durch Exkretion von Teilchen aus dem Symplasten in den stelaren Apoplasten bzw. in die Gefäße ausgeglichen werden. Wird das osmotische Potenzial des Mediums verändert, beeinflusst dies möglicherweise das Verhältnis zwischen diesen Teilchenflüssen. Dies könnte die gefundenen Differenzen zwischen der Änderung des Wurzeldruckes und der Änderung der radialen Differenz des osmotischen Druckes erklären.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Anwendung der Wurzeldrucksonde zur Untersuchung der Zusammenhänge zwischen dem radialen Volumen- und Teilchenfluss zu Ergebnissen geführt hat, die in sich widersprüchlich sind und im Widerspruch zu den Ergebnissen stehen, die mit anderen Methoden erzielt wurden. Die Schlussfolgerung über einen signifikanten Beitrag eines hydraulischen Weges außerhalb der Wurzelprotoplasten, die von Steudle und anderen Autoren aus diesen Ergebnissen gezogen wurden, können auch deswegen bezweifelt werden, weil sie nie durch den Nachweis eines echten *solvent drag* der Osmolyte bestätigt wurden. Allein die Tatsache, dass die Wurzelgewebe nicht als konservativ für den radialen Volumenfluss bei der Druckrelaxation und generell als nicht konservativ hinsichtlich des Teilchenflusses zu betrachten sind, unterstreicht die Notwendigkeit einer Revision der weit verbreiteten Hypothese eines unselektiven Nebenweges für den Volumenfluss über die Zellwände, welche mit den Druckrelaxationsexperimenten mit der Wurzeldrucksonde begründet wurde.

1.2 Radialtransport von NaCl durch die feinen Seitenwurzeln von salztoleranten und salzempfindlichen Pflanzen

In der obersten Schicht der Lithosphäre ist NaCl das Salz, welchem die größte Rolle für die Beeinflussung der Wasseraufnahme der Pflanzen eingeräumt werden muss, da es leicht löslich ist und vor allem in ariden Gebieten in den oberen Bodenschichten hohe Konzentrationen erreichen kann. Auch in den Küstengebieten der Ozeane oder Meere treten häufig hohe Konzentrationen von NaCl in der Flüssigphase des Bodens auf. Hohe Salzkonzentrationen erzeugen bei Pflanzen, besonders den Glykophyten, durch osmotische Hemmung der Wasseraufnahme und durch die chemische Wirkung der Natrium- und Chloridionen auf die Protoplasten Stress. Der direkteste Weg der salztoleranten Pflanzen, den Effekt des Salzes auf die Wasseraufnahme und den Turgor zu kompensieren, ist dessen kontrollierte Aufnahme durch die Wurzel und seine Nutzung im Sinne der Osmoregulation des Vakuolensaftes in allen Pflanzenorganen. Dies erfordert eine Toleranz gegenüber hohen intrazellulären Natrium- und Chloridkonzentrationen. Viele Halophyten speichern Natrium- und Chloridionen in ähnlich hohen Konzentrationen in der Vakuole, wie sie in der Bodenlösung vorkommen. Zellphysiologische Voraussetzungen hierfür sind vor allem eine strikte Kompartimentierung der Ionen und die cytoplasmatische Osmoregulation mit „kompatiblen Substanzen“ bzw. Osmolyten. Der Begriff der „kompatiblen Substanzen“ wurde von Brown und Simpson (1972) eingeführt und umfasst unter anderem stickstoffhaltige organische Verbindungen wie Aminosäuren, Aminosäurederivate, Betaine und Amine als auch Polyole (Glycerol, Sorbitol, Mannitol) und bestimmte Zucker (Saccharose, Raffinose, Trehalose), welche die Funktion von Proteinen nicht stören und in hoher Konzentration im Cytoplasma wasser- und salzgestresster Pflanzen aber auch Bakterien, Pilzen und Algen vorkommen können (Flowers et al., 1977; Yancey et al., 1982; Robinson und Jones, 1986; Sheveleva et al., 1997). Für die osmoregulatorische Salzspeicherung müssen bestimmte systemische Voraussetzungen wie die Regulation der Salzaufnahme, die Verteilung des Salzes in der Pflanze, die Salzausscheidung durch Drüsen oder durch Wurzeln erfüllt sein, welche die Anpassung der Salzkonzentration in den Geweben an diejenige des Mediums ermöglichen (Flowers et al., 1977).

Ein anderer Weg der Reaktion der Pflanzen auf hohe Salzkonzentrationen, der keine zelluläre Salztoleranz in den wachsenden Sprossorganen erfordert, besteht darin, den Netto-Einstrom von Na^+ und/oder Cl^- in die Pflanze oder mindestens in die wachsenden salzempfindlichen Organe des transpirierenden Sprosses stark zu reduzieren. Dies ermöglicht

den Pflanzen, in den salzempfindlichen Geweben die zelluläre Osmoregulation in den Vakuolen durch Kaliumionen, organische Anionen oder Säuren und Nichtelektrolyte zu realisieren, wie es für Glykophyten typisch ist. Viele salztolerante Pflanzen speichern in der Tat kaum NaCl in wachsenden Sprossorganen und jungen Blättern. Auf Salzstandorten reichert sich transpirationsbedingt NaCl auch bei diesen Pflanzen in den älteren Blättern oder Blatteilen an und wird bei deren Absterben wieder aus der Pflanze entfernt. Zwischen den genannten grundlegenden Varianten der Anpassung salztoleranter Pflanzen an hohe Salzkonzentrationen, die zu ihrer Einteilung in *salt-excluder* und *salt-includer* führten, gibt es Übergansformen. Während die *salt-includer* das im Medium reichlich vorhandene NaCl als leicht verfügbaren Osmolyten auch in den assimilierenden Blättern nutzen, um ihren Turgor am Salzstandort zu regulieren, benötigen die *salt-excluder* für die Bereitstellung der organischen Osmolyte des Vakuolensaftes und der kompatiblen Osmolyte des Zytoplasmas eine größere Stoffwechselleistung. Die heute übliche Bezeichnung *salt-includer* zur Bezeichnung des Anpassungstyps von Halophyten und euryhalinen Pflanzen, die bei hohen Salzkonzentrationen einen normalen Turgor durch osmoregulatorisch wirkende Salzspeicherung aufrechterhalten, entspricht dem von H. Walter eingeführten Begriff des „Regulationstyps“ (Walter und Kreeb, 1970).

Glykophyten besitzen häufig die Fähigkeit zur selektiven Aufnahme von Kaliumionen in Anwesenheit relativ hoher Konzentrationen von NaCl und zeigen eine geringe Aufnahme von Kochsalz, wenn dessen Konzentration unterhalb einer für die Pflanze spezifischen Stress-Schwelle liegt. Sie sind daher ebenfalls als *salt-excluder* anzusehen. Es wurde von Cheeseman (1988) treffend festgestellt, dass die Unterteilung der Pflanzen in *excluder* und *includer* sehr ungenau ist, da selbst die salzempfindlichsten *excluder* in einem gewissen Maße Salz aufnehmen, wenn es im Medium vorhanden ist. Außerdem könnte der Begriff fälschlich so verstanden werden, als würden die *excluder* bei hohen Konzentrationen stets wenig Salz mit den Wurzeln aufnehmen. Bei vielen salztoleranten Pflanzen bezieht sich der Salzausschluss aber nicht auf die ganze Pflanze, sondern betrifft vor allem die assimilierenden und wachsenden Blätter. Es erscheint daher sinnvoller, die genannte Einteilung auf die wachsenden und photosynthetisch aktiven Blätter zu beziehen, welche auf Grund intensiver Transpiration am stärksten gefährdet sind, wenn der Xylemsaft hohe Konzentrationen an NaCl enthält. Es wird daher auch von Spross-*excludern* und Spross-*includern* gesprochen. Zur Gruppe der Spross-*includer* gehören viele ausgesprochene Halophyten. Für sie ist typisch, dass eine Erhöhung der Salzkonzentration im Medium das Wachstum des Sprosses fördert, jedoch nach Überschreiten eines Grenzwertes keine weitere

Wuchsförderung stattfindet. Vertreter dieser Gruppe, bei welchen in der Regel mehr als 80% der aufgenommenen Salze im Spross bzw. in den Blättern zu finden sind und dort dauerhaft gespeichert werden, sind z.B. die sukkulenten Arten *Salicornia europea* L., *Mesembryanthemum crystallinum* L. sowie viele Arten der Gattung *Atriplex* (Flowers et al., 1977).

Hohe Konzentrationen von Natriumionen verändern auf Grund ihrer starken Hydrathülle bereits bei moderaten cytoplasmatischen Konzentrationen die Sekundär- und Tertiärstruktur der an ein kaliumdominiertes Ionenmilieu angepassten Proteine (Enzyme) in den cytoplasmatischen Kompartimenten, was deren Funktion stört. Cytoplasmatische Enzyme von Halophyten bzw. salztoleranten Pflanzen sind gegen hohe Salzkonzentrationen ebenso empfindlich wie die von Glykophyten (Flowers et al., 1977). Daher muss ein großer Teil des aufgenommenen Kochsalzes in der Vakuole kompartimentiert werden. Der gerichtete Transport der Natriumionen in die Vakuole beruht in den bisher untersuchten Fällen auf Na^+/H^+ -Antiport und ist dementsprechend sekundär aktiv (Blumwald und Poole, 1985; Saqib et al., 2005).

Ein gut untersuchter Spross-*excluder* ist das euryhaline Schilf (*Phragmites australis* Trin. ex Steudel), welches sowohl im Frischwasser, als auch an Standorten mit Salzkonzentrationen von bis zu 500 mM wächst, dabei aber die Salzkonzentration in den jungen Blättern gering hält und dort ein hohes Kalium zu Natrium-Verhältnis aufrechterhalten kann (Matoh et al., 1988). Matsushita und Matoh (1991) fanden, dass es in den salztoleranten Schilfpflanzen zu einer deutlich geringeren Akkumulation von $^{22}\text{Na}^+$ im Spross kam als bei den salzempfindlicheren Reispflanzen, in denen $^{22}\text{Na}^+$ im Spross hohe Konzentrationen erreichte, während die Konzentration von $^{22}\text{Na}^+$ im Wurzelpresssaft der beiden Pflanzen vergleichbare Werte erreichte. Die von den Autoren vermutete Fähigkeit der Schilfpflanzen, Natriumionen im basalen Sprossteil aus dem aufsteigenden Xylemsaft zu eliminieren und mit Hilfe des Phloems in die Wurzel zurückzuführen, wurde in einer folgenden Arbeit (Matsushita und Matoh, 1992) überzeugend durch Ausschaltung des Phloems, durch Hitzering, bewiesen. Bei diesen Experimenten wurde ein niedriges Niveau der Natriumkonzentration in den Blättern nur bei solchen Pflanzen aufrechterhalten, deren Phloem im basalen Sprossteil intakt war. Die Fähigkeit der Schilfhalme, Na^+ bereits an der Basis aus dem Xylemsaft in das Gewebe zu entladen, wurde in der Arbeit von Kanai et al. (2007) bestätigt. Auch bei Gerstenpflanzen wurden die Entnahme des Natriums aus dem Xylemsaft, seine Speicherung im basalen Spross, sowie seine Translokation in das Phloem gefunden (Wolf et al., 1991). Darüber hinaus fanden die zuletzt genannten Autoren, dass es in jungen, nicht jedoch in alten Blättern zu einer signifikanten Phloembeladung mit Natriumionen kam.

Die Autoren folgerten, dass die jungen Blätter sich durch den Export der Natriumionen vor toxischen Konzentrationen schützten. Auch junge Blätter von Maispflanzen (Lohaus et al., 2000) und Gerstenpflanzen (Munns et al., 1986, 1988; Wolf et al., 1990) können in das Blatt aufgenommene Natriumionen und in geringerem Umfang auch Chlorid mit Hilfe des Phloems aus dem Blatt eliminieren.

Um die Anhäufung des aufgenommenen Natriums in der Pflanze zu begrenzen, kann es unter Umständen notwendig sein, das auf dem Phloemweg in die Wurzeln transportierte Natrium wieder an das Medium abzugeben. Auf Grund des potenziell unbegrenzten Wachstums der unterirdischen Rhizomteile des Schilfes und deren großer Speicherkapazität für Natriumionen (Baldantoni et al., 2009), sowie der Möglichkeit, aufgenommenes Natrium beim jährlichen Absterben der Althalme zu entsorgen, ist eine Ausscheidung von Natrium an das Medium zur Vermeidung toxischer Konzentrationen möglicherweise nicht nötig. Takahashi et al. (2007) zeigten in *pulse-chase*-Experimenten an Schilfpflanzen, dass aufgenommenes $^{22}\text{Na}^+$ wieder an ein isotonisches unmarkiertes Salzmedium abgegeben wurde. In dieser Arbeit wurde jedoch die Aufnahme der im Medium vorhandenen unmarkierten Natriumionen durch die Wurzeln nicht gleichzeitig gemessen. Lessani und Marschner (1978) fanden bei Bohnenpflanzen, dass 14% des über die Blattoberfläche aufgenommenen $^{22}\text{Na}^+$ und teilweise auch $^{36}\text{Cl}^-$ in die Wurzel transportiert und an ein kochsalz-freies Medium abgegeben wurde. Es ist daher nicht unwahrscheinlich, dass auch beim Schilf eine Ausscheidung des retranslozierten Natriums durch die Wurzeln stattfindet und dass hierdurch die Netto-Salzaufnahme begrenzt wird.

Während die Bedeutung der Rückführung der aufgenommenen Natriumionen in die submersen Organe über das Phloem für die Kontrolle der Salzkonzentration im Schilfspross nachgewiesen ist, gibt es für das Schilf bisher keine Untersuchungen über die Kontrolle der passiven Salzaufnahme bei hohen Salzkonzentrationen des Mediums, also über den möglichen Ausschluss des Salzes aus dem Xylemsaft der Wurzel. Aus einer Studie über die Salzspeicherung in unterschiedlichen Teilen der Schilfpflanzen an einem Brackwasserstandort (Bellaire, 1998) geht hervor, dass *Phragmites australis* kein *excluder* im allgemeinen Sinne ist, sondern in den Wurzeln und Rhizomwänden NaCl in osmoregulatorisch wirksamen Konzentrationen akkumuliert. Es stellt sich daher die Frage, ob die apoplastische radiale Diffusion, welche bei hohen äußeren Salzkonzentrationen bedeutungsvoll sein kann (vergl. Abschnitt 1.1.6), bei der salztoleranten Art *Phragmites australis* stärker eingeschränkt wird, als bei den glykophytischen Gramineen *Zea mays* L. oder *Oryza sativa* L.. Die passiven Salzflüsse durch den Apoplasten der Wurzeln können durch die

sekundäre und tertiäre Veränderung der apoplastischen Barrieren (vergl. Abschnitt 1.1.2) beeinflusst und möglicherweise stark eingeschränkt werden (Tsuchiya et al., 1994; Reinhardt und Rost, 1995; Hose et al., 2001; Enstone et al., 2002; Krishnamurthy et al., 2009). Eine hohe Permeabilität der Wurzeln für NaCl kann umgekehrt durchaus vorteilhaft für die osmoregulatorische Nutzung von NaCl in den nicht assimilierenden Teilen des Sprosses (Rhizom und Halmbasis) sein. Eine starke apoplastische Barriere in den Wurzeln, die das an Brackwasserstandorten dominierende NaCl aus dem Xylem weitgehend ausschließt, könnte die Versorgung des Sprosses mit Calciumionen behindern. Dieses Problem wird bei hohen NaCl-Konzentrationen verschärft, weil hohe Natriumkonzentrationen die Akkumulation der Calciumionen im Donnan-Raum des Wurzelapoplasten stark reduzieren und damit den Radialtransport der Calciumionen durch den Apoplasten stark behindern können.

Die Unabhängigkeit der radialen Salzaufnahme vom radialen Wasserfluss, wie sie von Ginsburg und Ginzburg (1970a) für Kortextröhrchen ohne Stele (*sleeves*), von Maiswurzeln, von Munns (1985) bei Gerstenwurzeln, von Ochiai und Matoh (2002, 2004), Naito et al. (1994), Tsuchiya (1996) und Tsuchiya et al. (1994) bei Reiswurzeln gefunden wurde, kann die Regulation der Salzaufnahme vereinfachen. Bei schwachem Wasserfluss (geringer Transpirationsrate) könnte der Radialtransport von NaCl in die Xylemgefäße die Xylemsaftkonzentration des Salzes erhöhen und so den Wasserpotenzialgradienten zwischen Medium und Gefäßen verringern, wodurch die Wasseraufnahme in die Gefäße auch ohne eine starke Kohäsionsspannung möglich wäre. Wenn, was bisher nicht dokumentiert ist, der für Natriumionen nachgewiesene Retranslokationsmechanismus auch für die Chloridionen gilt, könnte sich das Wasserpotenzial des Xylemsaftes bei der Strömung von den Wurzeln in die oberen Internodien des Halmes erhöhen, falls die Xylemsaftkonzentration von NaCl in der Wurzel osmotisch relevant ist. Auf diese Weise wäre der von Matoh et al. (1988) gefundene Retranslokationsmechanismus nicht nur für die Aufrechterhaltung von Frischwasserhältnissen im Xylemsaft der oberen Halminternodien, sondern auch für den Turgor der apikalen Blätter und des Wachstumskegels bei geringen Transpirationsraten bedeutsam. Bei hohen Wasserflüssen, wie sie am Tage erreicht werden, wäre dagegen der Xylemsaft stark verdünnt, so dass die Salzbelastung durch die Transpiration nur leicht (durch *pseudo solvent drag*) verstärkt wird. Ungeklärt ist, ob die von Munns (1985) und Ochiai und Matoh (2002, 2004) nachgewiesenen hohen Salzkonzentrationen im Xylemsaft der Gramineenwurzeln, welche auf salzbelasteten Substraten bei geringen radialen Wasserflüssen festgestellt wurden, auf einem symplastischen Radialtransport oder Diffusion durch die Zellwände der

Endodermis beruhen. Wegen der deutlichen Entkopplung der Salzaufnahme vom Wassertransport und wegen der beträchtlichen Salzspeicherung in den Wurzeln, nehmen viele Autoren an, dass der Radialtransport von NaCl bei den salztoleranten Gräsern durch Membrantransportsysteme kontrolliert wird und auf dem symplastischen Wege stattfindet (van Andel, 1953; Pitman, 1977, 1982; Läuchli et al., 2008). Wie in Abschnitt 1.1.5 erläutert wurde, ist die Unabhängigkeit des radialen Salzflusses vom Wasserfluss kein zwingendes Argument gegen einen überwiegend apoplastischen Radialtransport des Salzes. Die Möglichkeit, dass NaCl bei hohen Konzentrationen im Apoplasten die Radialwände der Endodermis diffusiv permeiert, wurde dagegen von Ochiai und Matoh (2002, 2004) favorisiert, welche eine enge Korrelationen zwischen dem radialen Salzfluss und dem Fluss verschiedener auf den Apoplasten beschränkter Farbstoffe feststellten und die durch Calciumionen und PEG 500 000 bewirkte Hemmung der NaCl-Aufnahme mit dem Einfluss dieser Substanzen auf die NaCl-Konzentration im Apoplasten erklärten. Tsuchiya et al. (1994) kamen ebenfalls zu der Schlussfolgerung dass der Eintritt von NaCl in die Xylemgefäße der Reiswurzeln durch den Caspary-Streifen sowohl in der Epidermis als auch die Exodermis vermindert werden kann.

1.3 Schlussfolgerungen und Aufgaben für den experimentellen Teil

Die verbreitete Vorstellung, dass die Wurzelreflexionskoeffizienten für Salze und niedermolekulare Nichteletkrolyte wesentlich niedriger sind als diejenigen der Plasmamembran, beruht vor allem auf der Interpretation von Experimenten mit der Wurzeldrucksonde an Maiskeimwurzeln, bei denen der osmotische Druck des Xylemsaftes nicht bestimmt wurde. Die dabei ermittelten radialen Wurzelreflexionskoeffizienten widersprechen zahlreichen Angaben aus der älteren und neueren Literatur. Letztere zeigen, dass der radiale Reflexionskoeffizient intakter Wurzeln für NaCl und niedermolekulare Nichteletkrolyte wie Zucker und Zuckeralkohole einen Wert von nahezu eins annimmt. Die bisherige Interpretation der osmotisch bedingten Wurzeldruckänderungen ist auch deswegen zweifelhaft, weil die dabei ermittelten Reflexionskoeffizienten auch für solche Osmolyten deutlich kleiner als eins sind, die nicht durch Zellwände permeieren. Außerdem ist kritisch anzumerken, dass der nichtkonservative Charakter der Gewebsmembran des Wurzelkortex für das Lösungsmittel Wasser und die Osmolyte des Xylemsaftes unberücksichtigt blieb.

Bisherige Messergebnisse zur spezifischen hydraulischen Permeabilität der Zellwände und zur Wirkung polymerer Osmolyte auf den Wasserfluss durch Parenchymgewebe machen es wahrscheinlich, dass der radiale Strömungswiderstand auf dem Zellwandweg auch ohne die zusätzliche Barriere durch die Caspary-Streifen einen physiologisch signifikanten Volumenfluss unter Umgehung der Protoplasten verhindert.

Die Hypothese einer durch den Diffusionswiderstand der verkorkten Radialwände in der Endodermis kontrollierten Permeabilität des Apoplasten für den Radialtransport gelöster Stoffe erscheint gut begründet. Sie wurde bisher hauptsächlich im Zusammenhang mit dem radialen Calciumtransport untersucht. Wegen der starken Permeationsbarriere in den radialen Zellwänden der Endodermis kann der apoplastische Weg des radialen Teilchentransportes vor allem dann bedeutsam werden, wenn zwischen dem kortikalen „Freien Raum“ und dem stelaren Apoplasten hohe Konzentrationsgradienten auftreten. Dies ist für den radialen Calciumtransport durch die Wurzeln der Glykophyten in der Regel der Fall, muss aber bei Wurzeln salztoleranter Pflanzen in einem Medium mit hoher NaCl-Konzentration auch für den radialen Salztransport angenommen werden. Die Xylemsaftbestandteile, insbesondere Kaliumsalze, Aminosäuren, Nitrat und organische Anionen erreichen im Xylemsaft weit höhere Konzentrationen als im Wurzelmedium, wenn ein starker radialer Volumenfluss fehlt. In diesem Fall ist mit einer Rückdiffusion der Xylemsaftbestandteile in den kortikalen Apoplasten zu rechnen. Eine Funktion der apoplastischen Barrieren an der Wurzeloberfläche könnte darin bestehen, den Verlust von Xylemsaftbestandteilen an das Medium zu behindern. Die Barrierefunktion der Exodermis- und Epidermiswände kann wesentlich geringer sein als diejenige der Endodermis, weil sekundär aktive Transportsysteme für Elektrolyte und Aminosäuren bereits bei sehr geringen Substratkonzentrationen in den Zellwänden des Apoplasten den Leckfluss aus der Stele kompensieren können.

Ein wesentliches Ziel dieser Arbeit bestand darin, die passiven Teilchenflüsse verschiedener Osmolyte (Salze, Mannitol) an verzweigten, feinwurzelseichen Wurzeln von *Zea mays* L. und *Phragmites australis* Trin. ex Steudel und ihre mögliche Kopplung mit dem Volumenfluss zu analysieren.

Obwohl anzunehmen ist, dass der radiale Volumenfluss des Wassers und die radiale Permeation der Xylemsaftbestandteile bei den Wurzelsystemen höherer Pflanzen vor allem in den Feinwurzeln kontrolliert wird, gibt es kaum Untersuchungen zu den Barrieren und den radialen Reflexionskoeffizienten in isolierten Seitenwurzeln mit geringem Durchmesser.

Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, Methoden zu entwickeln, mit deren Hilfe die Exsudationsleistung isolierter Feinwurzeln quantitativ untersucht werden

kann. Es kam vor allem darauf an, den Einfluss von Änderungen des äußeren osmotischen Druckes auf die Exsudation isolierter Feinwurzeln zu analysieren, um statistisch basierte Parameter zur Größe des osmotischen Druckes in den Xylemgefäßen der Feinwurzeln zu gewinnen. Polymere Osmolyte mit hohem Reflexionskoeffizienten auf dem Zellwandweg und niedermolekulare Osmolyte, die an den Zellwänden keinen Volumenfluss bewirken, sollten zur Hemmung des radialen Volumenflusses eingesetzt werden, um die Größe des radialen Reflexionskoeffizienten einzuschätzen. Außerdem sollte der Zeitverlauf der Exsudationsleistung an isolierten Feinwurzeln analysiert werden, um deren Abhängigkeit von der Versorgung durch das Phloem bewerten zu können.

Obwohl der Einfluss hydrostatischer und osmotischer Kräfte auf den Exsudationsfluss isolierter Wurzelsysteme in älteren Arbeiten dokumentiert ist, gibt es Klärungsbedarf zur Kurz-Zeit-Kinetik der Volumenflussänderung, die durch sehr geringe Änderungen des äußeren hydrostatischen und osmotischen Druckes ausgelöst wurden. Die wenigen neueren Arbeiten zu diesem Problem wurden mit Mikrofluss-Sensoren durchgeführt, die einen Gegendruck bewirken. Es wurde daher das Ziel verfolgt, mit Hilfe eines für die Mikroanalytik entwickelten Volumenfluss-Sensors die Kinetik des Volumenflusses mit hoher Zeitauflösung ohne Gegendruck zu messen, um daraus Schlussfolgerungen zur radialen hydraulischen Leitfähigkeit, zur Größe des Reflexionskoeffizienten und zur Dynamik der Xylemsaftkonzentration ziehen zu können.

Von verzweigten Wurzeln junger Maispflanzen, die in Hydrokultur gewachsen sind, ist bekannt, dass sie Xylemsaft mit hoher Geschwindigkeit exsudieren und daher ein gutes Modellsystem für die Analyse von Flussänderungen darstellen. Sie wurden für diesen Teil der Untersuchungen auch deswegen ausgewählt, weil die Hypothese des apoplastischen radialen Volumenflusses vor allem mit Ergebnissen begründet wurde, die an Maiswurzeln gewonnen wurden.

Bei der salztoleranten Graminee *Phragmites australis* gibt es Klärungsbedarf hinsichtlich der Barrierefunktion des Wurzelkortex für NaCl. Bei dieser Art ist bereits nachgewiesen worden, dass der Ausschluss der Natriumionen aus den Blättern der oberen Halminternodien durch ein effizientes System der Natrium-Entnahme aus dem aufsteigenden Xylemsaft zustande kommt, wobei ein funktionierender Phloemtransport in die submersen Organe essenziell ist. Es ist bisher bei dieser Art nicht untersucht worden, ob es einen *solvent drag* beim Radialtransport von NaCl durch die Wurzel gibt, ob neben Natriumionen auch Chlorid aus dem aufsteigenden Xylemsaft entfernt wird und ob sich das Wasser-

potenzial des Xylemsaftes beim Aufstieg im Halm durch Salzentnahme erhöht. Ein Ziel dieser Arbeit bestand daher darin, diese Fragen zu untersuchen.

2 Experimenteller Teil

2.1 Material und Methoden

2.1.1 Pflanzenmaterial

Maiskörner (*Zea mays* L.) cv. Badischer Landmais (Treppens Saatgut GmbH) wurden für 24 h in Wasser inkubiert. Anschließend wurden sie mit einem milden Detergenz kurz gewaschen, auf feuchtem Filterpapier ausgelegt und für ca. 4 d bei 30°C im Schwachlicht, in einer feuchten Kammer inkubiert. Anschließend wurden die Keimlinge auf einem modifizierten Hoagland-Medium (Hoagland und Broyer, 1936) mit 2,5 mM KNO₃, 2,5 mM Ca(NO₃)₂, 1,0 mM MgSO₄, 0,5 mM K₂HPO₄ oder einem modifizierten Knop-Medium, mit 6,0 mM Ca(NO₃)₂, 2,4 mM KNO₃, 1,8 mM KH₂PO₄, 1,6 mM KCl und 1 mM MgSO₄ angezogen. In einigen Fällen erfolgte die Anzucht in Leitungswasser mit 1,0 mM KCl und 0,5 mM CaCl₂. Alle Medien wurden mit einer Eisen-EDTA-Lösung (Endkonzentration 100 µM Fe(II)) und der A-Z-Mikronährstoff-Stammlösung nach Hoagland (1/1000) versetzt. Die Pflanzen wurden für weitere 12 bis 18 d in einem 16/8 h Lichtrhythmus bei ca. 250 µmol s⁻¹ m⁻² PPFD mit Son-T Agro 400 und Philips LPI-T Plus Lampen (Philips AG, Niederlande) bei Raumtemperatur angezogen. Um die durchschnittliche Transpirationsrate der einzelnen Pflanzen zu bestimmen, wurde der Gewichtsverlust des Anzuchtgefäßes mit der Pflanze bestimmt. Um einen ausreichenden Gasaustausch des Mediums mit der Umgebung sicherzustellen, wurde das Anzuchtgefäß, wie in Abbildung 1 dargestellt, mit einer gaspermeablen Polyethylenfolie ausgekleidet (Ehwald und Pörs, 2009) oder mit einem Modul gaspermeabler Hohlfasern versehen. Die Sauerstoffkonzentration des Mediums sank während der Kultivierung nicht unter 70 % Luftsättigung.

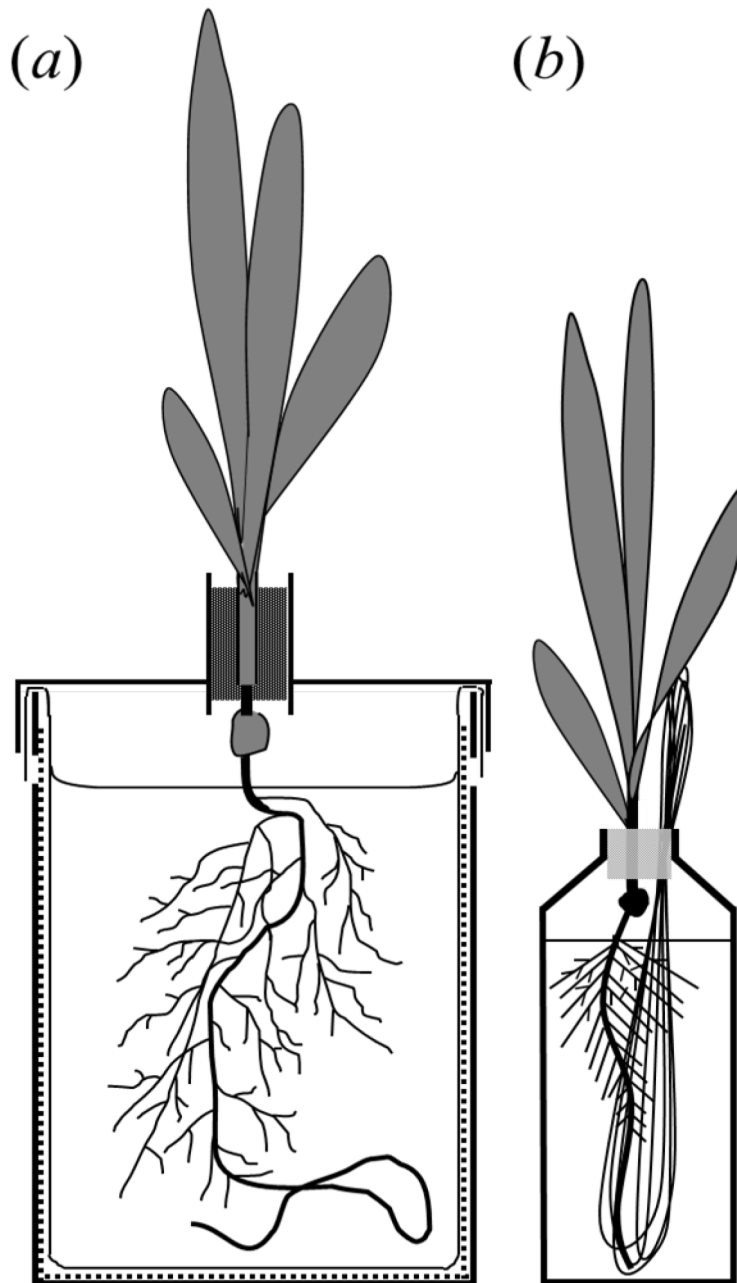


Abbildung 1: Anzuchtgefäß mit diffusiver Gasversorgung des Mediums.

500 ml-Anzuchtgefäß mit einer gaspermeablen Folie (a) und 50 ml-Anzuchtgefäß mit einem ca. 2 m langen Bündel von gaspermeablen Polypropylen-Hohlfasern (b). Die Folie bzw. die Hohlfasern dienen zur diffusiven Gasversorgung des Nährmediums. Die Maispflanzen wurden mit einem Schaumstoffstreifen am Mesokotyl umwickelt und so in einer durch den Deckel reichenden Röhre fixiert, dass die Karyopse nicht vom Nährmedium bedeckt wurde. (a) Durch Löcher im Container wird die diffusive Gasaustausch zwischen der Umgebung und dem mit Zellstoff ausgekleideten Raum (gepunktete Linie) gewährleistet, welcher an die Tüte aus Polyethylenfolie (dünne Linie) angrenzt, die das Medium enthält. Dieser Aufbau erlaubt den diffusiven Gasaustausch über die gesamte Oberfläche der gaspermeablen Folie (20 µm Wandstärke).

Schilfpflanzen von drei verschiedenen Standorten wurden untersucht. Der Standort Meldorf wurde ausgewählt, weil die Salzkonzentration im Medium des nahegelegenen flachen Sees, Kronenloch (8°57'43''E, 54°05'13''N), besonders hoch ist. Sie beträgt im Sommer ca. 300

mM NaCl, unterliegt aber saisonalen Schwankungen, da ein regelmäßiger Austausch des Wassers mit der angrenzenden Nordsee erfolgt. Der Standort Kloster (13°06'44'' E, 54°35'06'' N) ist ein Brackwasserstandort und liegt an einer flachen Bucht zwischen der Insel Hiddensee und der Insel Rügen. Die durchschnittliche Konzentration von NaCl an diesem Standort beträgt etwa 120 mM. Süßwasserpflanzen wurden von einem mesotrophen See (Grimnitzsee, 13°45'44'' E, 52°58'44'' N) nördlich von Berlin entnommen. Alle Experimente mit Pflanzen von Freilandstandorten wurden in der Zeit von Mai bis September in den Jahren 2005 bis 2010 gemacht. Für die Anzucht im Labor wurden Pflanzen des Süßwasserstandortes verwendet und in 60 l großen schwarzen, abgedeckten Gefäßen mit Leitungswasser angezogen, welchem 0,5 g l⁻¹ Wuxxal Super 10-8-8 w/v (Aglukon Spezialdünger GmbH und Co. KG) zugesetzt wurde. Der Dünger wurde monatlich zugegeben um eine Leitfähigkeit von 2,2 mS cm⁻¹ aufrecht zu erhalten, gegebenenfalls wurde Leitungswasser nachgefüllt um den Transpirationsverlust zu kompensieren. Für die Adaptation an hohe Salzkonzentrationen wurde NaCl in 3 Schritten von jeweils 3 mS cm⁻¹, mit jeweils 7 Tagen Akklimatisierungszeit, zugegeben um eine Leitfähigkeit von 12,2 mS cm⁻¹ (ca. 120 mM NaCl) zu erreichen.

2.1.2 Morphometrie der feinen Seitenwurzeln von Schilf

Die Seitenwurzeln der stark verzweigten Adventivwurzeln mehrerer Pflanzen welche im Gewächshaus in brackigem Substrat wuchsen wurden von der Hauptwurzel abgetrennt und kurz mit Zellstoff abgetupft. Die Feinwurzeln wurden in ihr Wachstumsmedium überführt und der Anteil absinkender und schwimmender Feinwurzeln bestimmt. Von der Hauptwurzel und den Feinwurzeln wurden das Gewicht und die Länge gemessen. Außerdem wurden frische Handschnitte der Feinwurzeln angefertigt und anschließend mit Neufuchsin- und Chrysoidinlösung gefärbt (siehe Abschnitt 2.1.3) um die Wurzeln für die anschließende morphometrische Untersuchung besser zu kontrastieren.

2.1.3 Färbung der Wurzelquerschnitte

Handschnitte der Seitenwurzeln von Schilf und Mais und anderen Heliophyten wurden auf einem Objektträger mit der leicht sauren ACN Lösung (Kremer, 2002) welche Astralblau (1 g l⁻¹), Neufuchsin (50 mg l⁻¹), und Chrysoidin (50 mg l⁻¹) enthielt, gefärbt. Lignin wird von Neufuchsin (rot) angefärbt, Suberin wird von Chrysoidin (orange) und Zellulose wird von Astralblau (blau) angefärbt.

2.1.4 Präparation der abgetrennten Seitenwurzeln

Feinwurzeln wurden von der maternalen Wurzel abgetrennt und wieder in ihr Wachstumsmedium überführt, welchem, wenn angegeben, Glucose in einer Konzentration von 1 g l^{-1} zugesetzt wurde. Wenn keine Differenzierung zwischen der kortikalen und der stelaren Exsudation vorgenommen werden sollte, wurde die gewünschte Anzahl der abgetrennten Feinwurzeln direkt, nach kurzem abtupfen des Oberflächenfilms mit Zellstoff, aus dem Anzuchtmedium in das spezifische Untersuchungsmedium überführt. Um die Exsudation des Kortex getrennt von der stelaren Exsudation zu untersuchen, wurde der Kortex in der Nähe des basalen Schnittendes vorsichtig mit einem Skalpell entfernt. Dieser Vorgang wurde mit einer Stereolupe überwacht und im Anzuchtmedium durchgeführt.

2.1.5 Herstellung der gereinigten Suspension von Chinatusche-Mikropartikeln

Die Stammlösung der Mikropartikeln wurde durch Entfernen der löslichen Zusätze einer Chinatusche (Artist Discount GmbH, Bad Segeberg, Deutschland) gewonnen. Die Chinatusche wurde im Verhältnis 1:10 mit 96 % Ethanol gemischt, die präzipitierten Partikel wurden durch Zentrifugieren pelletiert. Nach zweimaligem Waschen in großen Volumina von 40 % Ethanol mit jeweils anschließender Zentrifugation wurden die Partikeln in Wasser überführt und der verbliebene Alkohol durch Kochen entfernt. Die Konzentration der Partikeln wurde auf 100 g l^{-1} eingestellt und die Abwesenheit von gelösten Stoffen mit dem Gefrierpunktsmomometer kontrolliert. Proben der Stammlösung wurden bei $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert, vor der Verwendung aufgetaut und 2 min lang mit einem Ultraschallstab (Branson Sonic Power Company, Connecticut, USA) resuspendiert.

2.1.6 Nachweis des axialen Volumenflusses der Xylemsaft-Exsudation an isolierten feinen Seitenwurzeln

Die isolierten Feinwurzeln wurden in 200 - 400 μl einer Suspension der Tuschepartikeln (1 g l^{-1}), welche gegebenenfalls weitere Osmolyte in der gewünschten Konzentration enthielt, in eine Untersuchungskammer überführt. Um eine Veränderung des osmotischen Druckes der Suspension mit dem an den Wurzeln gebundenen Oberflächenwasser zu vermeiden wurden die Wurzeln vor ihrer Überführung in das Medium mit Zellstoff abgetupft. Für die Herstellung der Untersuchungskammer wurden gaspermeable Polypropylen Hohlfasern (Accurel 50/280, Membrana AG, Wuppertal, Deutschland) mit einem Außendurchmesser

von 380 μm parallel, im Abstand von ca. 5 mm, auf einen Objektträger aufgeklebt (Abbildung 2). Die Gasfüllung der Fasern bewirkte die diffusive Sauerstoffversorgung der abgetrennten Feinwurzeln unter dem Deckgläschen. Bis zu 30 Wurzeln konnten parallel untersucht werden. Durch die Flüssigkeitsabgabe an der kortikalen und/oder stelaren Öffnung der basalen Schnittstelle wurden die Kohlenstoffpartikeln verdrängt. Auf Grund der geringen Diffusionsgeschwindigkeit der Partikeln bildete sich eine gut sichtbare helle Schliere. Das Andauern des Volumenflusses wurde nach Vermischung der Suspension durch Bewegung des Deckgläschens und erneute Verdrängung der Partikeln sichtbar gemacht.

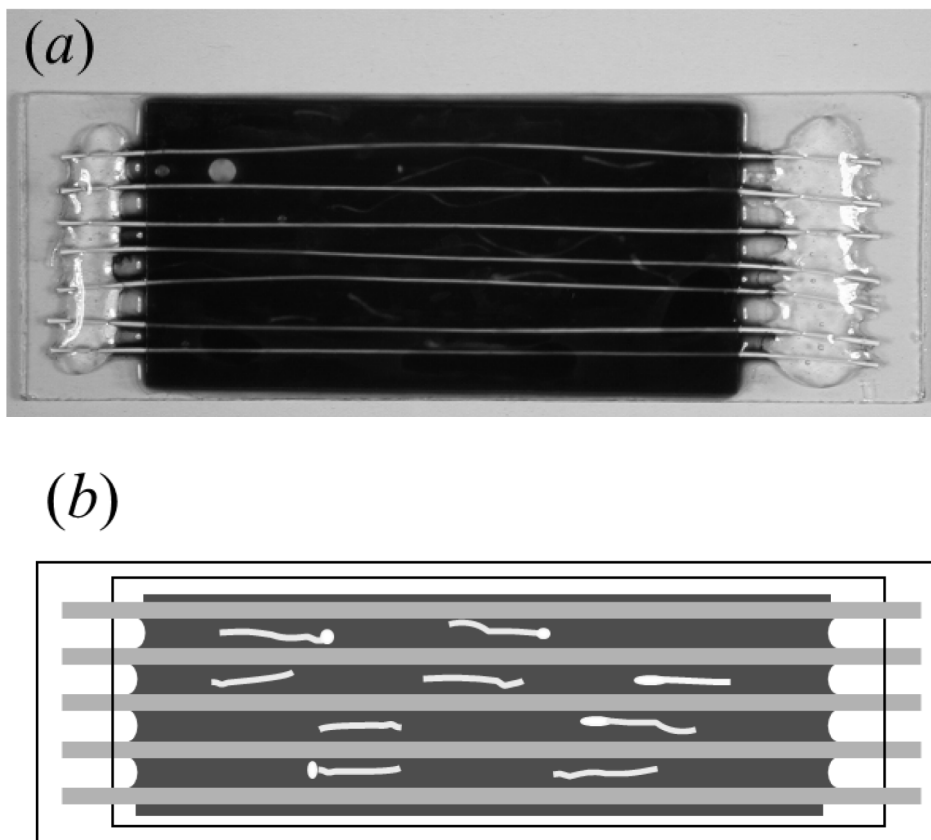


Abbildung 2: Untersuchungskammer für die Beobachtung der Abgabe von Xylemsaft durch isolierte Feinwurzeln.

Gaspermeable Holfasern welche mit Hilfe von Epoxidharz auf einen Objektträger geklebt wurden versorgen die Flüssigkeit unter dem Deckglas diffusiv mit Sauerstoff. (a) Foto einer Untersuchungskammer, (b) Schema einer Untersuchungskammer.

Der axiale Strom von Tuschepartikeln aus einer hypertonen Suspension in die axialen Leitungsbahnen abgetrennter Feinwurzeln von Schilf konnte unter dem Mikroskop in Echtzeit beobachtet werden, da diese dünnen Wurzeln auf Grund des Fehlens von Luft in den Interzellularräumen transparent sind. Hierfür wurden die Wurzeln in einer Suspension der Tuschepartikeln ($0,5 \text{ g l}^{-1}$) mit dem gewünschten hypertonen Medium inkubiert und

der Einstrom mit dem Mikroskop beobachtet. Bei Feinwurzeln von Mais war die Akkumulation der Partikeln im Xylem nur im Wurzelquerschnitt sichtbar, da die kortikalen Interzellularen gasgefüllt waren.

2.1.7 Nachweis des axialen Einstromes des Evans Blau-Mediums in die Gefäße isolierter Seitenwurzeln

Abgetrennte Feinwurzeln wurden in ihrem Wachstumsmedium aufbewahrt, bevor sie in eine Lösung überführt wurden, welche 10 g l^{-1} Evans Blau (osmotischer Partialdruck 1,0 bar) und gegebenenfalls weitere Osmolyte in der gewünschten Konzentration enthielt. Die Evans Blau-Lösung wurde mit Leitungswasser, deionisiertem Wasser oder dem Wasser des Standortes (Schilf) bzw. Anzuchtmediums (Mais) angesetzt. Um eine Veränderung des osmotischen Druckes der Untersuchungslösung durch mit dem an den Wurzeln gebundenen Oberflächenwasser zu vermeiden wurden die Wurzeln mit Zellstoff abgetupft, bevor sie für 5 min (Standardprozedur) oder einen längeren Zeitraum in der vor Verdunstung geschützten Farbstofflösung inkubiert wurden. War das Medium hypertonisch gegenüber dem Xylemsaft, strömte die Farbstofflösung ein und färbte die Xylemgefäße irreversibel. Nach 5 min wurde, wenn nicht anders angegeben, die Probe der Feinwurzeln in Leitungswasser oder einer CaCl_2 Lösung gewaschen. Anschließend wurden die Wurzeln auf einen Objektträger überführt und mit Hilfe eines zweiten gepresst. Der Längensanteil der Färbung der nun gut sichtbaren Xylemgefäße wurde bei geringer Vergrößerung im Durchlichtmikroskop bestimmt. Die Färbung der Xylemgefäße wurde als selektiv gewertet, wenn die Färbungslänge mindestens eines der Xylemgefäße deutlich über den Bereich der unspezifischen Färbung an der Schnittstelle hinausging.

2.1.8 Median des osmotischen Druckes des Xylemsaftes in feinen Seitenwurzeln

Der osmotische Druck, bei welchem die Hälfte aller Wurzeln einer Stichprobe einen Einstrom des Mediums in die Xylemgefäße zeigte, wurde als Median des osmotischen Druckes ihres Xylemsaftes zum Zeitpunkt der Überführung in das Untersuchungsmediums definiert. Der Anteil der isolierten Seitenwurzeln einer Probe, die in einem Medium mit definiertem osmotischem Druck eine spezifische Färbung der Gefäße mit Evans Blau oder eine eindeutige Aufhellung der Tuschesuspension an der Wurzelbasis zeigten, wurde gegen den osmotischen Druck des Untersuchungsmediums aufgetragen. Der osmotische Druck des Untersuchungsmediums, welcher einem Anteil exsudierender Wurzeln von 0,5 entspricht,

wurde durch Interpolation bestimmt. Hierzu wurden nur die Werte genutzt, welche zwischen 0,2 und 0,8 lagen. Der Median des osmotischen Druckes lag bei den untersuchten Maiswurzeln in der Regel 0,5 bis 1,5 bar über dem osmotischen Druck des Anzuchtmediums. Aus diesem Grund konnte eine Bestimmung des Medianwertes mit drei bis vier Testlösungen, die diesen Bereich abdeckten, erfolgen.

2.1.9 Messung des Xylemsaftflusses mit Hilfe eines thermoelektrischen Fluss-Sensors und Beeinflussung des Volumenflusses durch osmotische und hydrostatische Druckänderungen

An die Stele der Hauptwurzel wurde ein Silikonschlauch angeschlossen, dessen offenes Ende über einem PEEK Schlauch mit dem Mikro Fluss-Sensor SLG 1430 (Sensirion AG, Staefa, Schweiz) oder dem Nano Fluss-Sensor (Upchurch Scientific, Oak Harbour, USA) verbunden wurde. Um eine flüssigkeitsdichte Verbindung zur Stele zu schaffen, wurde ein englumiger Silikonschlauch (Reichelt Chemietechnik GmbH und Co., Heidelberg, Deutschland) auf die radial mit elastischem Cyanacrylatkleber (Loctite 4860, Henkel, München, Deutschland) vorbehandelte, oberflächlich abgetrocknete, Stele geschoben. Um eine Beeinflussung der Messung durch Luftblasen zu vermeiden, wurde das gesamte Messsystem inklusive der Schläuche mit Wasser vorgefüllt. Der radiale hydrostatische Druckgradient wurde durch das Eintauchen des mit dem Auslass des Sensors verbundenen PEEK Schlauches in das Medium oder in ein auf selber Höhe befindliches Medium in einem anderen Gefäß auf null gesetzt.

Um einen hydrostatischen Druckgradienten zwischen dem Medium und den Xylemgefäßen anzulegen konnte mit Hilfe eines Dreiwegehahnes zwischen relativ zum Wurzelmedium unterschiedlich hoch gelegenen Auslassgefäßen gewechselt werden (Abbildung 3a). Alternativ wurde das Wurzelsystem in ein druckdichtes Gefäß überführt und der Luftdruck über dem Wurzelmedium variiert (Abbildung 3b). Der Strömungswiderstand des Sensors und der Schläuche erzeugte auch bei den stärksten gemessenen Flüssen keinen signifikanten Gegendruck.

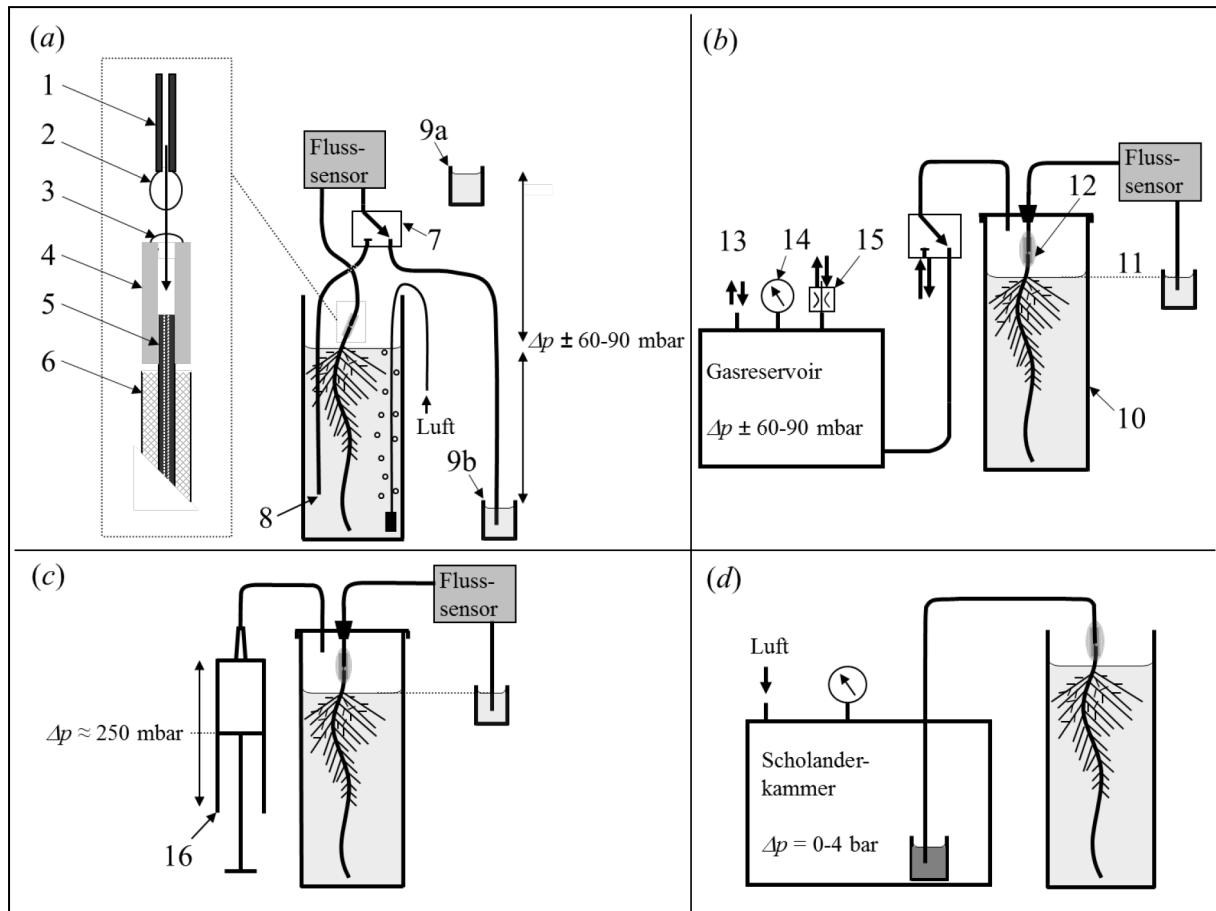


Abbildung 3: Applikation radialer hydrostatischer und osmotischer Druckdifferenzen.

(a) Apparat zur Applikation eines radialen hydrostatischen Druckgradienten durch Veränderung der Höhe des Abflusses des Xylemsaftes. Die Stele (5) wurde vom Kortex (6) befreit und ihre Oberfläche mit Cyanacrylatkleber behandelt, bevor sie in den Silikonadapter (4) eingeführt wurde (Einblendung). Nachdem die Schläuche von der Ausflusseite komplett und luftblasenfrei mit Wasser befüllt wurden, erschien ein Tropfen (2) an der Verbindungsstelle des Zuführungsschlauches zum Sensor (1). Der Zuführungsschlauch konnte so luftblasenfrei an den Silikonadapter (4) angeschlossen werden, welcher Exsudat (3) enthielt. Der Ausflussschlauch des Sensors wurde mit einem Dreiwegehahn (7) verbunden, der ein schnelles Umschalten zwischen den verschiedenen Höhenstufen des Abflusses (9a, b) und dem Mediumlevel (8, $\Delta p = 0$ mbar) erlaubte. (b) Aufbau zur Applikation eines radialen hydrostatischen Druckgradienten. Die Wurzel und das Wurzelmedium wurden gasdicht in einem Anzuchtgefäß (10) eingeschlossen, wobei der Ausfluss des Xylemsaftes unter atmosphärischem Druck auf der Höhe des Mediums (11) gehalten wurde. Um elastische Verformungen des Silikonadapters zu vermeiden, wurde dieser in Gips (12) eingegossen. Der Luftdruck über dem Medium konnte durch Verbindung des Einlassschlauches der Scholanderkammer mit einem Gasreservoir, dessen Druck leicht über oder unter dem atmosphärischen Druck lag, geregelt werden. Dieses Reservoir war über einen Schlauch (13) mit einer starken Gaspumpe verbunden, die im Saug- oder im Druckmodus arbeitete. Der Druck im Reservoir wurde mit Hilfe eines Manometers (14) kontrolliert und durch ein Ventil (15) geregelt. Die Druckdifferenz konnte innerhalb einer Sekunde eingestellt werden. (c) Applikation von oszillierenden Druckgradienten. Das gasdichte Anzuchtgefäß wurde mit einer Spritze verbunden, deren Volumen manuell verändert wurde. (d) Perfusion der Wurzel mit Säurefuchsin. Die Wurzel wurde wie in (a) beschrieben mit einem PEEK-Schlauch verbunden. Das andere Ende wurde in ein Gefäß mit der Säurefuchsin-Lösung eingetaucht, welches sich in einer Scholanderbombe befand. Die Scholanderbombe erlaubte ein genaues Einstellen des hydrostatischen Druckes über der Farbstofflösung.

Um den osmotischen Druck des Wurzelmediums zu erhöhen, wurden definierte Mengen der zu untersuchenden Osmolyte zum Medium hinzugegeben. Der Osmolyt wurde hierfür in einem kleinen vom Medium abgenommenen Volumen (ca. 10 ml) gelöst und anschließend schnell in den Luftblasenstrom (Abbildung 3a) eingeführt um seine gleichmäßige Verteilung zu erreichen. Definierte Volumina von Methanol und Ethanol wurden direkt mit einer Hamilton-Spritze zum Medium hinzugegeben. Nach Beendigung des Experimentes wurde die Menge des Mediums im Untersuchungsgefäß gravimetrisch bestimmt. Der genaue osmotische Druck des zugegebenen Osmolyten wurde anhand einer zuvor ermittelten Eichgerade oder mit Hilfe eines Gefrierpunktsmometers bestimmt.

2.1.10 Numerische Beschreibung der Flusskinetik nach Applikation osmotischer oder hydrostatischer Druckgradienten

Um die Kinetik der transienten Flussänderung beschreiben zu können wurden die mit dem Fluss-Sensor aufgezeichneten Werte bestmöglich an Gleichung 7, oder an Gleichung 8 angepasst. Erstere beschreibt die nichtlineare Komponente der Flussänderung mit einer einfachen Exponentialgleich, letztere mit der Summe aus zwei Exponentialgleichungen:

$$J_t = J^0 + \Delta J + Ae^{-\alpha t} + lt \quad (\text{Gl. 7}),$$

$$J_t = J^0 + \Delta J + A_1e^{-\alpha_1 t} + A_2e^{-\alpha_2 t} + lt \quad (\text{Gl. 8}).$$

In diesen Gleichungen ist J^0 der stationäre Exsudationsfluss zum Zeitpunkt der Druckänderung bzw. zum Zeitpunkt der Zugabe des Osmolyten ($t = 0$) und J_t ist der aktuelle Fluss. Die permanente Flussänderung ΔJ beschreibt dabei die Differenz zwischen den stationären Flüssen der Exsudation vor und nach dem Anlegen der entsprechenden Kräfte. A , A_1 und A_2 sind die Amplituden der Flussänderung, α , α_1 und α_2 die Geschwindigkeitskonstanten des exponentiellen Abklingens dieser Amplituden. Die Abklingprozesse mit der größten Geschwindigkeitskonstante sind mit dem Index 1 versehen. Der Faktor l beschreibt den linearen Trend der endogenen Flussänderung. Für α , α_1 , α_2 und die mit ihnen analytisch berechneten Werte A , A_1 , A_2 , l und ΔJ wurden mit Hilfe der Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno-Methode die beste Anpassung an Gleichung 7 bzw. Gleichung 8 ermittelt. Diese Arbeit wurde mit Hilfe eines von Dr. Stefan Lorenzen (Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Theoretische Biologie) entwickelten Computerprogramms durchgeführt (Fritz et al., 2010). Gleichung 8 wurde genutzt, wenn hierdurch die Qualität der Anpassung gegenüber Gleichung 7 deutlich erhöht wurde. Durch Integration der am besten angepassten

Kurven konnte das während des betrachteten Zeitintervalls im Xylem geflossene Volumen bestimmt werden.

2.1.11 Visualisierung der Verletzungsstellen an intakten Wurzelsystemen von Mais

Die maternale Stele einer Hauptwurzel, welche sich in einer Beobachtungskammer mit planen Wänden befand, wurde, wie in Abschnitt 2.1.9 beschrieben, über einen englumigen Silikongummi mit einem PEEK-Schlauch verbunden. Die offene Seite des PEEK-Schlauches mündete in eine wässrige Lösung mit Säurefuchsin (4 g l^{-1}) und war mit dieser Lösung vorgefüllt. Um die Wurzel mit der Farbstofflösung zu perfundieren, wurde das Reservoir der Farbstofflösung mit Hilfe einer Scholanderbombe unter Überdruck gebracht. Der hydrostatische Druck auf die Farbstofflösung wurde langsam auf ca. 3 bar angehoben und so lange aufrechterhalten, bis eine deutliche Färbung der Seitenwurzeln beobachtet werden konnte.

2.1.12 Diffusion von Säurefuchsin aus dem Medium in den Kortex der feinen Seitenwurzeln des Schilfes

Eine intakte Adventivwurzel wurde für 20 min in eine Farbstofflösung (4 g l^{-1}) überführt, welche mit dem filtrierten Brackwasser des Standortes hergestellt wurde. Die Stele der Hauptwurzel wurde dabei nicht in die Farbstofflösung eingetaucht und wurde gegebenenfalls durch Schläuche mit dem von einer Wasserstrahlpumpe erzeugten Unterdruck verbunden, um den radialen Wasserfluss zu stimulieren. Nach 20 min wurde die Wurzel kurz im Brackwasser gewaschen und Querschnitte der Feinwurzeln entlang der Achse angefertigt.

2.1.13 Infiltration von lufthaltigen Interzellularräumen

Abgetrennte Feinwurzeln wurden in einem Glasgefäß, welches das Wurzelmedium enthielt, in eine Scholanderbombe (Skye Instruments, Powy, Großbritannien) überführt und für ca. 10 min ein Druck von 3 bar appliziert. Diese Zeit war ausreichend, um die Luft in den Interzellularräumen vollständig zu lösen, was durch die Abwesenheit der lichtreflektierenden Gaskanäle im Mikroskop sichtbar wurde. Die Wurzeln erschienen nach der Infiltration komplett transparent und die Xylemgefäße waren bei geeigneter Vergrößerung im Durchlicht erkennbar.

2.1.14 Applikation von Luftdruck auf die Interzellularräume von Schilf- und Maiswurzelsystemen

Um untersuchen zu können, ob die gasgefüllten Interzellularräume der Hauptwurzel (Mais) bzw. der sprossbürtigen und rhizombürtigen Adventivwurzeln (Schilf) ein gasgefülltes Kontinuum mit den kortikalen Interzellularen ihrer Seitenwurzeln bilden, wurden die gasgefüllten Interzellularräume der Hauptwurzel über einen elastischen Silikon-Adapter mit einer Luftpumpe unter Überdruck gebracht und überprüft, ob an den Schnittenden der dekapitierten Seitenwurzeln Gasblasen entstanden, wenn diese in Wasser untergetaucht waren.

2.1.15 Sammlung von Xylemsaft an der Schnittstelle der maternalen Wurzeln

Um das Exsudat der Wurzeln zu sammeln, wurde der Kortex der Wurzeln nahe der Wurzelbasis mit Hilfe eines Skalpells abgetrennt, die kortikalen Zellschichten von der Stele wurden entfernt und die Stele wurde, wie in Abschnitt 2.1.9, beschrieben in einen englumigen Silikonschlauch eingeführt. Die offene Seite des Schlauches wurde mit einer Pipettenspitze verbunden in welcher das Exsudat gesammelt wurde. Die weite Öffnung der Pipettenspitze wurde mit Parafilm (Pachenev Ltd. Co, Chicago, USA) verschlossen, welcher zum Druckausgleich leicht perforiert war.

Um hydrostatischen Druck auf das Medium zu applizieren, wurden die präparierte Wurzel mit einem passenden Gefäß, welches das Medium enthielt, in eine Scholanderkammer (Skye Instruments, Powy, Großbritannien) eingebracht. Zur Sammlung des Xylemsaftes wurde in diesem Fall an den mit der Stele der Hauptwurzel verbundenen Silikonschlauch ein PEEK-Schlauch angeschlossen, welcher durch einen geräteeigenen Dichtungsgummi nach außen geführt wurde. Dieser PEEK-Schlauch wurde mit einem Sammelgefäß verbunden. Über die Gewichtszunahme des Gefäßes wurde der Xylemsaftfluss bestimmt. Um eine Infiltration der luftgefüllten Interzellularräume der Hauptwurzel bei der Druckapplikation zu vermeiden und den ungefilterten Strom von Medium durch die Dichtung zwischen Stele und Silikonschlauch auszuschließen, wurde der Kortex an der Schnittstelle mit Hilfe von Zellstoff von Wundsaft und anheftendem Oberflächenwasser befreit, so dass der Druckausgleich zwischen den Interzellularräumen und der Kammeratmosphäre ungehindert erfolgen konnte. Die Wurzel wurde in dem Gefäß mit dem Medium so positioniert, dass sich die Verbindungsstelle zwischen Stele und PEEK-Schlauch über

dem Flüssigkeitsspiegel im Luftraum der Scholanderbombe befand und die abgetrocknete Schnittstelle des Kortex nicht in das Medium eintauchte.

2.1.16 Kontinuierliche Messung der elektrischen Leitfähigkeit des Xylemsaftes

Zwischen zwei verklebten Acrylglasplatten befand sich eine von zwei dünnen Platindrähten begrenzte Messkammer, deren Volumen weniger als 1 μ l betrug. Sie wurde in die Flüssigkeitsleitung zwischen der Wurzelstele und dem Fluss-Sensor integriert. Als Messgerät diente ein Wechselstrom-Leitfähigkeitsmessgerät (Konduktomat, VEB Messgeräte Bannewitz, DDR) mit angeschlossenem Kompensationsschreiber.

2.1.17 Exposition der Maispflanzen in einem mannitolhaltigen Medium bei unterschiedlichen Transpirationsraten

Eine konzentrierte Mannitollösung (0,5 M) wurde dem Medium der Hydrokultur zugefügt um die gewünschte Konzentration (50 oder 60 mM) zu erreichen. Um eine breite Variation der Transpirationsraten zu gewährleisten, wurden die Pflanzen auf zwei Gruppen aufgeteilt. Beide Gruppen wurden kontinuierlich belichtet. In einer Gruppe betrug die relative Luftfeuchtigkeit der Umgebungsluft ca. 40 %. In der anderen Gruppe wurde durch das unvollständige Schließen des Deckels des Glasgefäßes in dem sich die Pflanzen befanden, die Transpiration gehemmt. Nach einer ca. 24-stündigen Inkubation wurden der Spross und die Wurzeln einzeln geerntet. Die mittlere Transpirationsrate wurde durch den Gewichtsverlust des Anzuchtgefäßes (Abbildung 1a) mit der Pflanze bestimmt. Dieser Gewichtsverlust konnte mit dem mittleren Volumenfluss in den Spross gleichgesetzt werden, da es in Kontrollversuchen ohne Pflanzen nicht zu einer signifikanten Gewichtsabnahme kam. Die berechnete mittlere Konzentration des Mannitols im Xylemsaft entspricht dem Quotienten aus der im Spross gefundenen Menge an Mannitol und dem Gewichtsverlust des Anzuchtgefäßes. Das auf Grund des Wachstums in den Spross fließende Volumen blieb unberücksichtigt. Da der transpirative Wasserverlust innerhalb von 24 h mindestens so groß war wie die Blattmasse, ist davon auszugehen, dass hierdurch entstandene Fehler der Konzentrationsbestimmung des Xylemsaftes bei niedrigen Transpirationsraten klein und bei hohen vernachlässigbar sind.

2.1.18 Gewinnung von Presssäften, Korrektur der Verdünnung durch den Oberflächenfilm bei den Presssäften der Wurzeln

Sprosssteile von mindestens 5 Pflanzen (Schilf) oder definierte Sprosssteile einer einzelnen Pflanze (Mais) wurden sofort nach dem Abtrennen in ein Polypropylengefäß (50 ml) überführt, in welchem sie für mindestens 30 min bei -20 °C eingefroren wurden. Nach dem Aufwärmen wurde das Gewebe mit Hilfe einer Schraubzwinge gepresst, der Saft in Eppendorfgläsern gesammelt und bis zur weiteren Analyse bei -20 °C gelagert.

Für die Gewinnung von Wurzelpresssaft wurden die Wurzeln durch kurzes Erhitzen in einer verschlossenen Spritze denaturiert und nach dem Abkühlen gepresst. Um die Gewebekonzentration der analysierten Stoffe in der Wurzel bestimmen zu können, wurde der Oberflächenfilm der Wurzeln mit PEG 2000, welches im Untersuchungsmedium gelöst war (5 g l⁻¹), für 10 min äquilibriert. Die Konzentration von PEG im Presssaft diente der Bestimmung des Volumens des Oberflächenfilms am Presssaftvolumen. Für die Berechnung der Gewebekonzentration in den Wurzeln wurde der Volumenanteil des Oberflächenfilms berücksichtigt.

2.1.19 Sammlung von Xylemsaft aus Internodien des Schilfhalmes

Einzelne Halme wurden nach Entfernung aller Blätter nahe der Sprossbasis abgetrennt und einzelne Internodien inklusive der angrenzenden Nodi herausgetrennt. Submerse Internodien wurden mit deionisiertem Wasser abgespült und mit Zellstoff abgetrocknet, um eine Verunreinigung des Xylemsaftes mit dem Medium zu vermeiden. Der Xylemsaft wurde mit einer Luftpumpe ausgeblasen. Hierfür wurden die Nodi entfernt und die Markhöhle mit Hilfe eines konischen Adapters dicht verschlossen. Der Saft wurde in einem Eppendorf Gefäß gesammelt und anschließend bei -18 °C gelagert.

2.1.20 Gaschromatographische Analyse der Alditole im Wurzelexsudat und im Presssaft

Die Bestimmung der Konzentration der Alditole im Xylemsaft bzw. Presssaft erfolgte entsprechend der Methode von Henry et al. (1983) nach Umwandlung der Alditole in ihre Essigsäure-Ester mit Hilfe des Gaschromatographen Auto System Model 9000 (Bodenwerke Perkin Elmer, Deutschland) mit einer Supelco SPM-2380 Trennsäule (Sigma Aldrich

Chemie GmbH, Deutschland). Hierfür wurden 50 µl einer Inositol-Lösung (1 bzw. 5 mM) als interner Standard und 50 µl des Exsudates bzw. des Presssaftes mit 1 ml Essigsäureanhydrid sowie 50 µl 1-Methylimidazol gemischt und für 15 min bei 95 °C inkubiert. Nach dem Abkühlen der Mischung im Eisbad wurden 2,5 ml einer Na₃PO₄ -Lösung (40 g l⁻¹) und anschließend 200 µl Methylenchlorid zugegeben. Nach intensivem Schütteln wurden die verschlossenen Glasgefäße 2 h im Eisbad gelagert und anschließend bei 2000 g zentrifugiert. Die klare Methylenchloridphase mit den acetylierten Alditolen wurde in Eppendorf-Gefäße überführt, auf dem Thermoblock auf 10- 20 µl eingengt und anschließend auf die Chromatographiesäule aufgetragen. Chromatogramme, welche mit dem Xylem- oder Presssaft von Kontrollpflanzen angefertigt wurden, zeigten keinen Ausschlag (*peaks*) bei den Eluierungszeiten von Ribitol, Mannitol oder Inositol. Aus dem Verhältnis der *peak*-Größe des internen Standards (Inositol) und denjenigen von Mannitol bzw. Ribitol wurde die Alditolkonzentrationen in den Press-Säften oder Eluatens bestimmt.

2.1.21 Bestimmung von Polyethylenglykolen

Die Polyethylenglykole konnten mit Hilfe einer kolorimetrischen Reaktion, welche auf der Bestimmung nach Childs (1975) beruht, im Presssaft und im Xylemsaft sehr empfindlich (Nachweisgrenze unter 1 µg) bestimmt werden. Hierzu wurden 100 µl der Xylemsaft- oder Presssaftprobe mit einem Reagens versetzt, das durch Mischen von 3,9 ml Wasser, 0,1 ml einer 0,1 N Lugol'schen Lösung und 1 ml einer 10% Bariumchloridlösung hergestellt wurde. Durch die Zugabe der Probe kam es zu einem Farbumschlag. Nach einmaligem Schwenken und 10 s Reaktionszeit wurde die Extinktion bei einer Wellenlänge von 535 nm gemessen. Presssaftproben wurden zur Deproteinierung, welche die Reaktion beeinflusst, vor der kolorimetrischen Erfassung der PEG-Konzentration im Verhältnis 1 zu 20 mit 10 % Trichloressigsäure gemischt und für 10 min bei 13000 g zentrifugiert. Bei geringen Konzentrationen vom PEG wurde der Wasseranteil im Reagens auf Kosten des Probenanteils verringert. Bei geringem Volumen der Probe konnte das Gesamtvolumen des kolorimetrischen Ansatzes auf 1 ml reduziert werden.

2.1.22 Chloridbestimmung

Die konduktometrische Chloridtitration erfolgte mit dem Leitfähigkeitsmessgerät LM 301 (VEB Hydromat, Bannewitz, DDR), wobei die Silbernitratlösung mit Hilfe einer Hamilton-Spritze zu kleinen, gerührten Volumina der mit entionisiertem Wasser verdünnten Probe hinzugegeben wurde. Für die kolorimetrische Chloridtitration nach Mohr wurden 200 µl

einer 40 mM Kaliumchromatlösung als Indikator in ein kleines Glasgefäß vorgelegt und die gewünschte Menge des Xylemsaftes oder Presssaftes zugegeben. Mit Hilfe einer Hamilton-Spritze wurde Silbernitratlösung geeigneter Konzentration (in Abhängigkeit von der zu erwartenden Chloridkonzentration zwischen 10 und 100 mM) unter ständigem Rühren hinzugegeben, bis der Farbumschlag erfolgte.

2.1.23 Bestimmung der Kationen

Die Bestimmung der Konzentrationen von Natriumionen, Kaliumionen, Lithiumionen und Rubidiumionen erfolgte mit einem Atomabsorptionsspektrometer (AAS 3110) der Fa. Perkin Elmer (Perkin Elmer Bodenseewerke, Deutschland) welches im Emissionsmodus betreiben wurde. Mit dem Flammenphotometer PFP7 der Fa. Jenway (Bibby Scientific Limited, Großbritannien) konnte unter Verwendung der jeweiligen optischen Filter die Konzentration von Natriumionen und Kaliumionen bestimmt werden.

2.1.24 Bestimmung der Ausschlussgrenze der Tüpfelmembranen zwischen den Gefäßen der verzweigten Maiswurzel

Um die Ausschlussgrenze der Tüpfelmembranen zwischen den Gefäßen der Feinwurzeln und denen der Wurzelachse zu bestimmen, wurden die Seitenwurzeln mehrerer Wurzelsysteme dekapitiert und die so behandelten Wurzelsysteme anschließend in Dextranlösungen unterschiedlicher Molmasse mit einer Massekonzentration von 0,1 % überführt, welche α -Methylglucosid in der gleichen Massekonzentration enthielten. Durch Anlegen eines Überdruckes (ca. 3 bar) auf die Dextranlösung, mit Hilfe einer Scholanderbombe, wurden die Wurzeln mit der Dextranlösung perfundiert. Der Ausschlusseffekt der Tüpfelmembranen wurde durch das permeationschromatographisch bestimmte Konzentrationsverhältnis zwischen dem Dextran und dem niedermolekularen Zucker im Xylemsaft quantifiziert. Zur Trennung des Zuckers von den polymeren Glucanmolekülen wurde die von Woehlecke und Ehwald (1995) beschriebene Methode der ausschlusschromatographischen Fraktionierung mit einer Superdex 70-Säule und der polarimetrischen Detektion mit Hilfe des HPLC-Gerätes (Chiralizer) verwendet.

2.1.25 Bestimmung des Volumenelastizitätsmodulus des Wurzelsystems von Maispflanzen

Ein intaktes Wurzelsystem befand sich einem genau bestimmten Volumen (ca. 35 ml) einer belüfteten Lösung von Dextran 50 (5 g l^{-1}) in einem zylindrischen Glasgefäß mit Thermo-mantel, welche zusätzlich $0,5 \text{ mM CaCl}_2$ enthielt. Die Temperatur wurde auf 29°C eingestellt. Die Stele der exsudierenden Wurzel wurde durch mit Xylemsaft vorgefüllte PEEK-Schläuche mit dem Fluss-Sensor verbunden. Der Abfluss konnte entweder in das Wurzelmedium eingeleitet oder in ein anderes Gefäß abgeleitet werden. Der Xylemsaftfluss der Exsudation wurde kontinuierlich gemessen und aufgezeichnet. Für die Messung des Drehwinkels der Dextranlösung, welcher proportional zur Konzentration der Lösung ist, wurde ein *air-lift* getriebenes Umlaufsystem nach Ehwald et al. (1973b) genutzt. Die Dextrankonzentration im Wurzelmedium wurde mit einer Verzögerung von etwa 20 Sekunden mit Hilfe eines Bandkompensationsschreibers aufgezeichnet. Ein Beispiel hierfür ist in Abbildung 4a dargestellt. Vor der Messung der Wasseraufnahme und der Zugabe des Osmolyten (NaCl) wurde die verdunstungsbedingte Konzentrationsänderung durch Einstellen der Temperatur des zur Luftbefeuchtung eingesetzten Wassers, wie von Ehwald et al. (1973b) beschrieben, beseitigt. Um die Konzentrationszunahme der Dextranlösung durch die radiale Wasseraufnahme der Wurzel hierbei zu vermeiden und die Volumenkonstanz des Mediums zu gewährleisten, befand sich der Abfluss des Xylemsaftes zunächst im Medium (Abbildung 4a, 1). Nach Herausnehmen der Xylemsaftabflussleitung aus dem Dextranmedium (2) wurde die Wasseraufnahme durch die Wurzel an Hand der Drehwinkelzunahme registriert (2-3). Eine berechnete Menge von NaCl wurde in einem kleinen Teil abgenommenen Mediums gelöst und dem Medium wieder hinzugefügt (3), so dass eine NaCl -Konzentration von 50 mM im Medium eingestellt wurde ($\Delta\pi_0 = 2,39 \text{ bar}$). Dabei wurde den Wurzeln osmotisch Wasser entzogen (Abbildung 4a, 3) wodurch sich die Dextrankonzentration bzw. der Drehwinkel reduzierte. Die Zugabe des Salzes führte vorübergehend zur Bildung von Schlieren im Dextranmedium und damit für einige Minuten zu nichtauswertbaren Drehwerten. Nach etwa drei Minuten war die volle Transparenz in der Küvette wieder erreicht, und die osmotisch bedingte Drehwinkelabnahme $\Delta\alpha$, aus der die abgegebene Wassermenge berechnet wurde, konnte genau abgelesen werden. Bei der Berechnung des nach 10 min von den Wurzeln abgegebenen Volumens, die auf Grund des Eichwertes erfolgte, wurde die Drehwinkelabnahme, die allein durch die Salz-Zugabe im gleichen Volumen der Dextranlösung bewirkt wird, berücksichtigt. Nach der Zugabe des

Osmolyten kam es zu einer vorübergehenden Reversion der Xylemsaftflussrichtung (Abbildung 4b, 3). Sie war nach 10 min beendet. Der in dieser Zeit in die Gefäße strömende Nettofluss wurde durch Integration der Daten des Fluss-Sensors ermittelt.

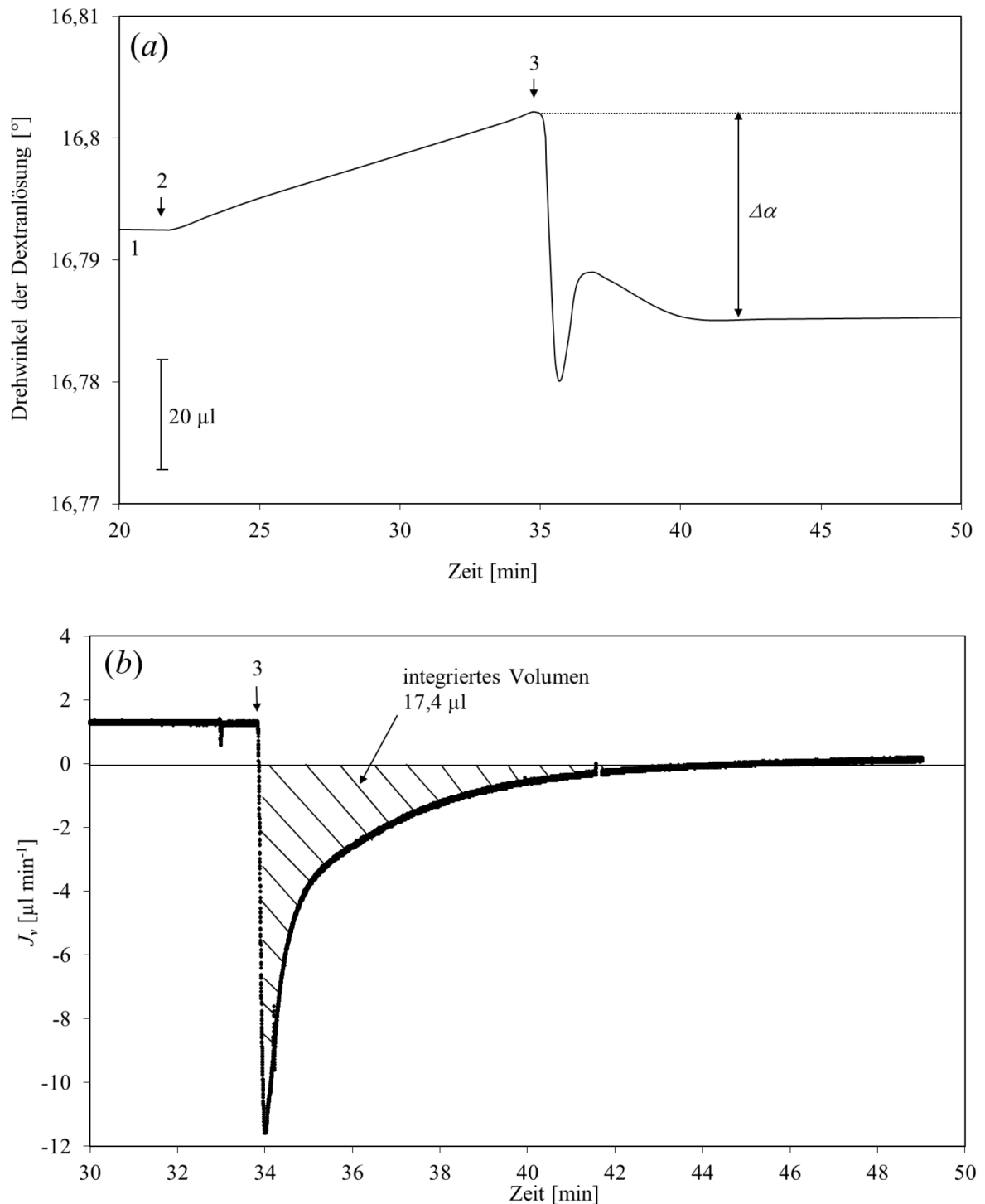


Abbildung 4: Bestimmung des von der Wurzel in das Medium abgegebenen Volumens aus der Drehwinkelabnahme ($\Delta\alpha$) 10 min nach Erhöhung des osmotischen Druckes im Medium durch Zugabe von NaCl (a) und des in der gleichen Zeit in das Xylem einströmenden Volumens durch Integration der Flussänderung (b).

Die Differenz ΔV zwischen der osmotisch bedingten Volumenabgabe an das Medium (polarimetrisch bestimmt) und des in die Gefäße einströmenden Volumens ermöglichte es, die elastische Volumenkapazität C und den Volumenelastizitätsmodulus ε der Wurzel zu berechnen. Sie erfolgte unter Verwendung der folgenden Formel:

$$\frac{1}{C} = \varepsilon = \frac{\Delta\pi_0 V}{\Delta V}$$

Zur Ermittlung des Wurzelvolumens V wurde nach dem Experiment die Wurzelfrischmasse ermittelt, wobei der Oberflächenfilm mit Hilfe von Zellstoff sorgfältig reduziert wurde und die Dichte der Wurzel mit 1 g cm^{-3} angenommen wurde.

2.2 Ergebnisse

2.2.1 Ergebnisse zum radialen Volumen - und Teilchenfluss an verzweigten Maiswurzeln

2.2.1.1 Radiale Permeation von Säurefuchsin an verletzten und unverletzten Seitenwurzeln

Wurde das Xylem isolierter Wurzelsysteme hydroponisch angezogener Maispflanzen mit einer Farbstofflösung (4 g l^{-1} Säurefuchsin) perfundiert, trat bei Wurzeln, welche kurzfristig aus dem Umgebungsmedium in den Luftraum gehoben wurden, Farbstoff an einzelnen Verbindungsstellen zwischen den Seitenwurzeln und der Hauptwurzel aus, während an der Mehrheit der Seitenwurzeln keinerlei Farbstoffaustritt erkennbar war. Der Farbstoffaustritt war eng lokalisiert. Waren die Seitenwurzeln nicht an der Basis, sondern an anderen Stellen geknickt, kam es an diesen Knickstellen zum Austritt des Farbstoffes (Abbildung 5a).



Abbildung 5: Permeation von Säurefuchsin aus der Stele in den Kortex von Maiswurzeln.

(a) Austritt von Säurefuchsin an der Basis mechanisch verletzter Seitenwurzeln nach kurzem Herausnehmen der Wurzel aus ihrem Medium. Säurefuchsin wurde für 10 min mit einem Druck von ca. 3 bar in die Stele der Hauptwurzel injiziert. (b) Nach längerer Infusion der Farbstofflösung ist der Kortex der unverletzten Seitenwurzeln im subapikalen Bereich gefärbt, während im restlichen Bereich der Wurzel nur die Stele gefärbt ist. Die Säurefuchsin-Lösung wurde für ca. 20 min mit einem Druck von ca. 4 bar in die Stele der Hauptwurzeln infundiert. Bei einigen Wurzeln kam es zur Infiltration der Kortexinterzellularen mit Säurefuchsin was zur homogenen Färbung der Wurzeln auf der gesamten Wurzellänge führte.

Das Experiment zeigt, dass der Kortex der turgeszenten feinen Seitenwurzeln durch schwerkraft- und kohäsionsbedingte Verbiegung beim Herausheben aus dem Medium verletzt wird. In Kontrollversuchen mit Wurzeln, welche nicht aus dem Medium herausgehoben wurden, wurde der Farbstoffaustritt nur an sehr wenigen Seitenwurzeln oder

überhaupt nicht beobachtet. Wurde das Perfusionsexperiment über einen längeren Zeitraum ausgedehnt, färbte sich der Kortex der Seitenwurzeln in der subapikalen Region, während in der basalen und medialen Region nur die Stele der Wurzel gefärbt wurde. Die meristematische Region der Wurzelspitze blieb immer ungefärbt (Abbildung 5b). Bei hohem Infusionsdruck ($\Delta p \approx 4$ bar) kam es allmählich in einem Teil der Seitenwurzeln zur Infiltration der normalerweise luftgefüllten Interzellularen des Kortex. Die bereits infiltrierten Seitenwurzeln waren auf der gesamten Wurzellänge homogen gefärbt (Abbildung 5b).

2.2.1.2 Volumenflüsse durch isolierte feine Seitenwurzeln

Um den osmotischen Druck des Xylemsaftes der Feinwurzeln abzuschätzen, wurden die in Abschnitt 2.1.6, 2.1.7 und 2.1.8 beschriebenen Methoden zur Bestimmung der Flussrichtung des Xylemsaftes eingesetzt. Wurden die isolierten Seitenwurzeln in einer Suspension der Tuschepartikeln im Anzuchtmedium inkubiert, war das Austreten des Xylemsaftes an der basalen Schnittstelle als lokale Aufhellung sichtbar (Abbildung 6a). Das Vorhandensein der Wurzelspitze war für den Austritt des Xylemsaftes nicht notwendig. Die Aufhellung konnte an solchen Wurzelsegmenten an beiden Schnittstellen beobachtet werden. Wurde die Stele einer Feinwurzel vom Mais freipräpariert, zeigte sich die Begrenzung des austretenden Volumenflusses auf die Stele (Abbildung 6b). Nach konvektiver Zerstörung der Schliere kam es innerhalb kurzer Zeit zur Ausbildung einer neuen Schliere, wenn sich die Wurzel im Anzuchtmedium befand (vergl. Abbildung 6b und c). Wurden die Interzellularräume des Kortex vor dem Überführen der Seitenwurzeln in eine hypotonische Suspension der Tuschepartikeln in einem Medium mit höherem osmotischen Druck infiltriert, trat Flüssigkeit an der Stele und vorübergehend auch aus dem infiltrierten Kortex aus (Abbildung 6d).

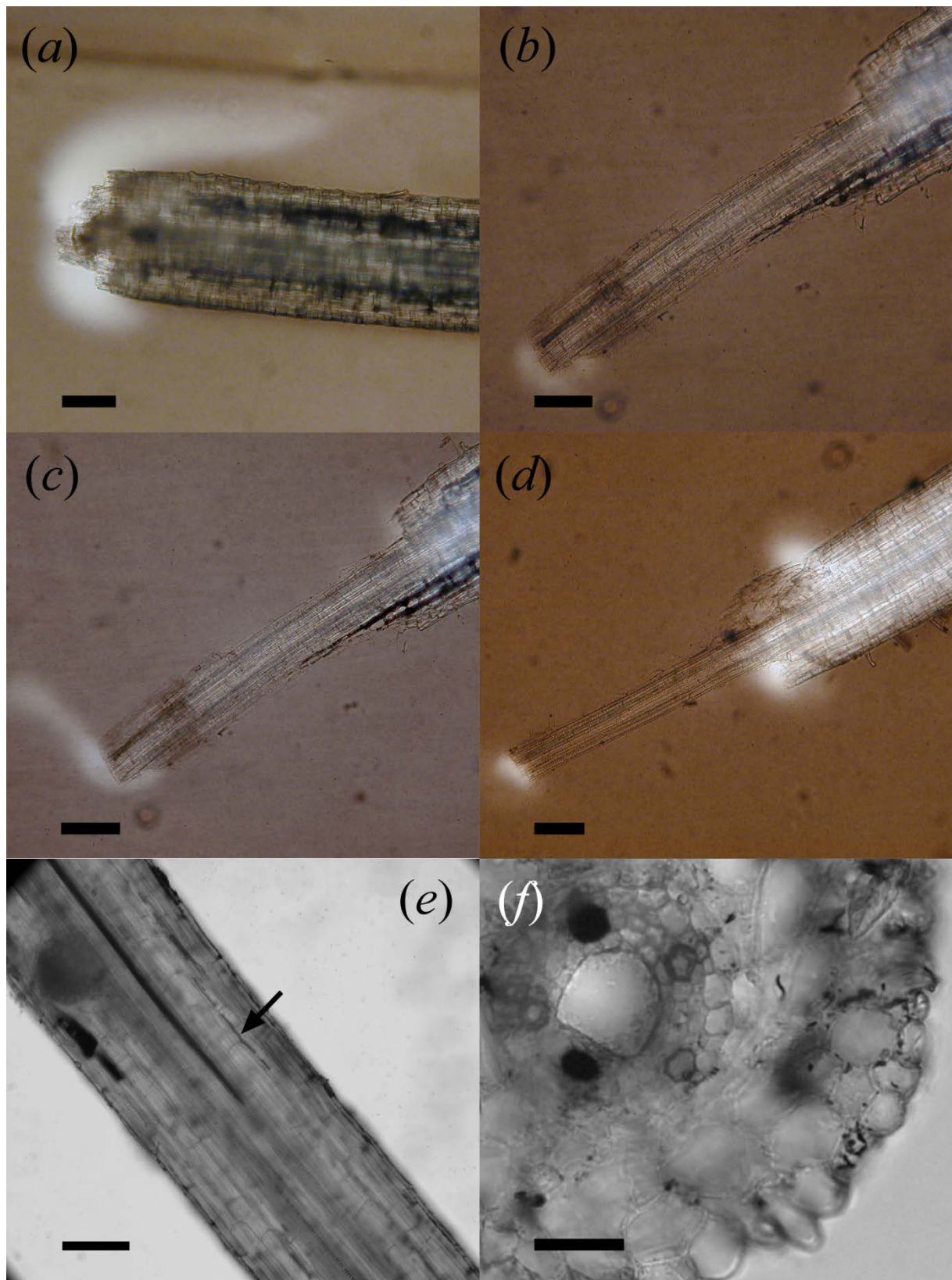


Abbildung 6: Visualisierung des axialen Volumenflusses in isolierten Feinwurzeln von hydroponisch angezogenen Maispflanzen mit Hilfe der Tuschemethode.

(a-c) Exsudation im Anzuchtmedium (Knop) mit Tuscheartikeln. (a) Verdrängung der Partikeln an einer geraden Schnittstelle. (b, c) Axialer Fluss aus der Stele. Fotos wurden im Abstand von 10 s aufgenommen. (d) Exsudation aus der Stele und dem Kortex einer mit Nährmedium ($\pi_0 = 0,1$ bar) infiltrierten Feinwurzel nach ihrer Überführung in $0,5$ mM CaCl_2 . (e, f) Einsaugen der Tuscheartikeln

in die infiltrierten kortikalen Interzellularräume und die Gefäße. Die in 0,5 mM CaCl_2 infiltrierte isolierte Feinwurzel wurde für 20 min in einer hypertonen Tusche-Suspension (Anzuchtmedium mit zusätzlich 100 mM CaCl_2) inkubiert. (e) Aufsicht auf die transparente Wurzel. In der Stele ist ein Gefäß bis zu einer bestimmten Entfernung zur Basis mit Tusche gefüllt, außerdem sind Interzellularspalten mit Tuschepartikeln erkennbar (Pfeil). (f) Medialer Querschnitt mit Tuschepartikeln in einem Teil der peripheren Xylemgefäße. Balken: (a-d) 75 μm , (e) 100 μm , (f) 25 μm .

Der Ausstrom an den kortikalen Interzellularräumen kam in diesem Fall innerhalb kurzer Zeit (< 5 min) zum Erliegen. In Tuschesuspensionen, die gegenüber dem Xylemsaft hypertone waren, konnte die osmotisch bedingte Umkehrung der Flussrichtung am Einsaugen der Tuschepartikeln in die Xylemgefäße festgestellt werden (Abbildung 6e, f), wobei die Strömung der Tuschpartikeln bis in die spitzennahe Zone reichte. In künstlich infiltrierten Feinwurzeln war der Einstrom in die Stele und die kortikalen Interzellularkanäle in Echtzeit beobachtbar.

Wurden feine Seitenwurzeln in ein Evans Blau-Medium überführt, welches hypertone zum Xylemsaft war, wurden die Xylemgefäße bis weit hinter die Schnittstelle gefärbt (Abbildung 7a). In einer zum Xylemsaft hypotonischen Lösung des Farbstoffes war das nicht der Fall (Abbildung 7b). In der Nähe der Schnittstelle kam es zur Färbung der toten und verletzten Zellen sowie der Zellwände an den im denaturierten Bereich stets infiltrierten Interzellularräumen (Abbildung 7a, b). Die Färbung einzelner Gefäße konnte in einer Wurzel in ihrer Länge unterschiedlich ausfallen (Abbildung 7c). Wurde die Wurzel in einem gegenüber dem Xylemsaft hypertonen Medium inkubiert, färbten sich die peripheren Xylemgefäße auf Grund des axialen Einstromes der Evans Blau-Lösung, welche durch den osmotisch bedingten radialen Austritt des Wassers aus dem Kortex erzwungen wurde (Abbildung 7d). Die kortikalen Interzellularräume blieben ungefärbt. Wurden Feinwurzeln nach künstlich herbeigeführter Infiltration der kortikalen Interzellularkanäle in eine zur Infiltrationslösung hypertone Evans Blau-Lösung überführt, so kam es zusätzlich zur Färbung der peripheren Xylemgefäße auch zu einer Färbung der Wände der kortikalen Interzellularkanäle. Die Färbung der Interzellularkanäle reichte in der Regel in apikaler Richtung weiter als die Färbung der Xylemgefäße (Abbildung 7e, f). Die Färbung der kortikalen Interzellularräume wurde auch dann beobachtet, wenn der osmotische Druck der Farbstofflösung niedriger war als der des Xylemsaftes, jedoch höher als derjenige der Infiltrationslösung.

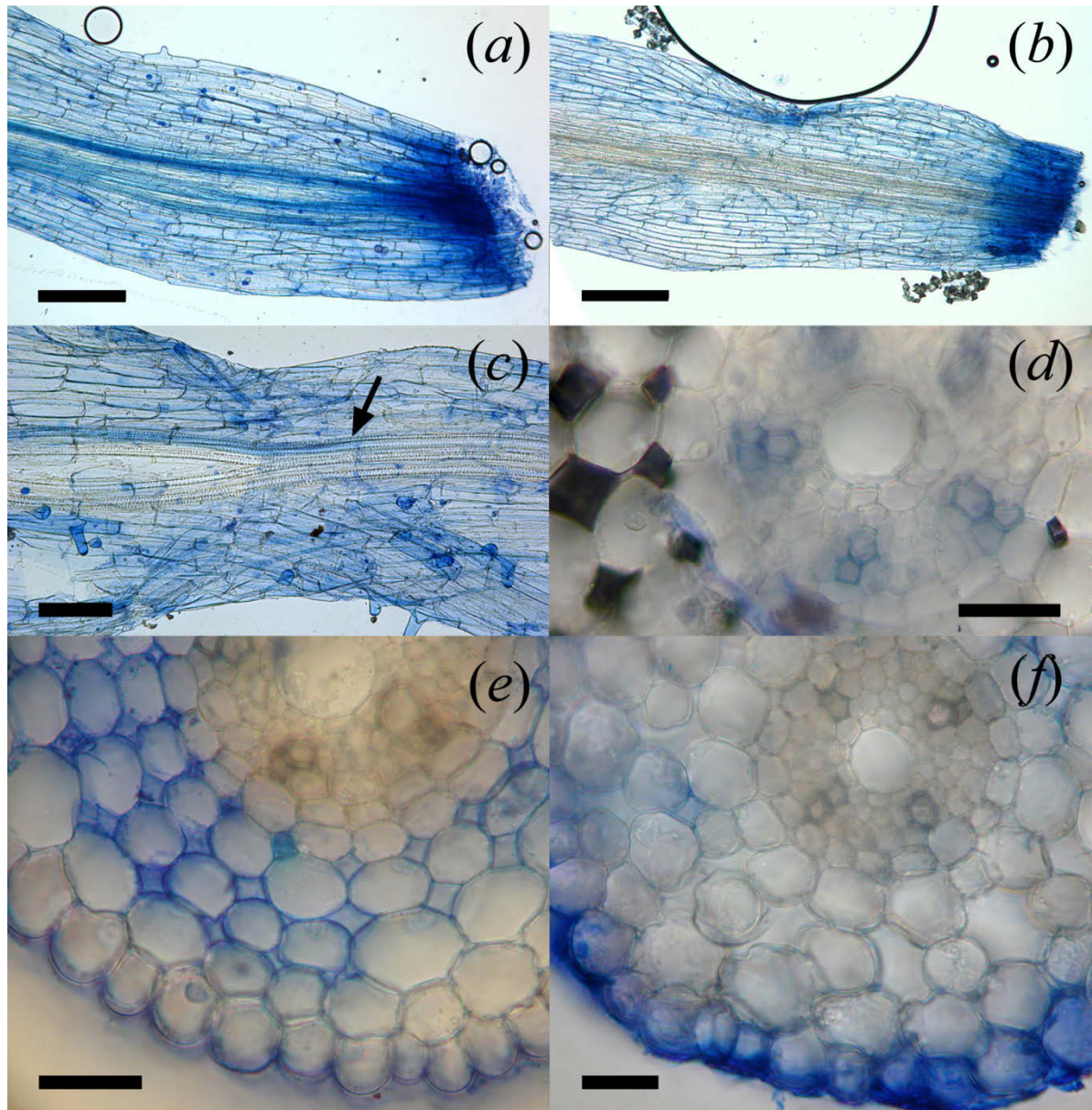
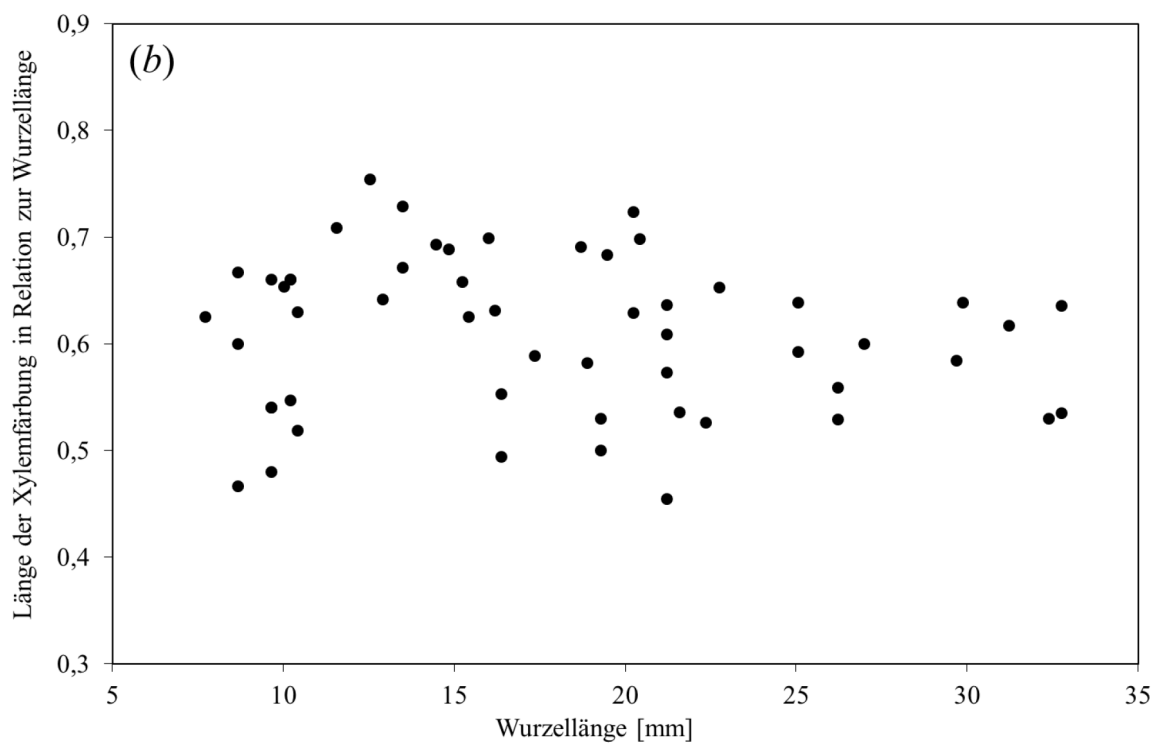
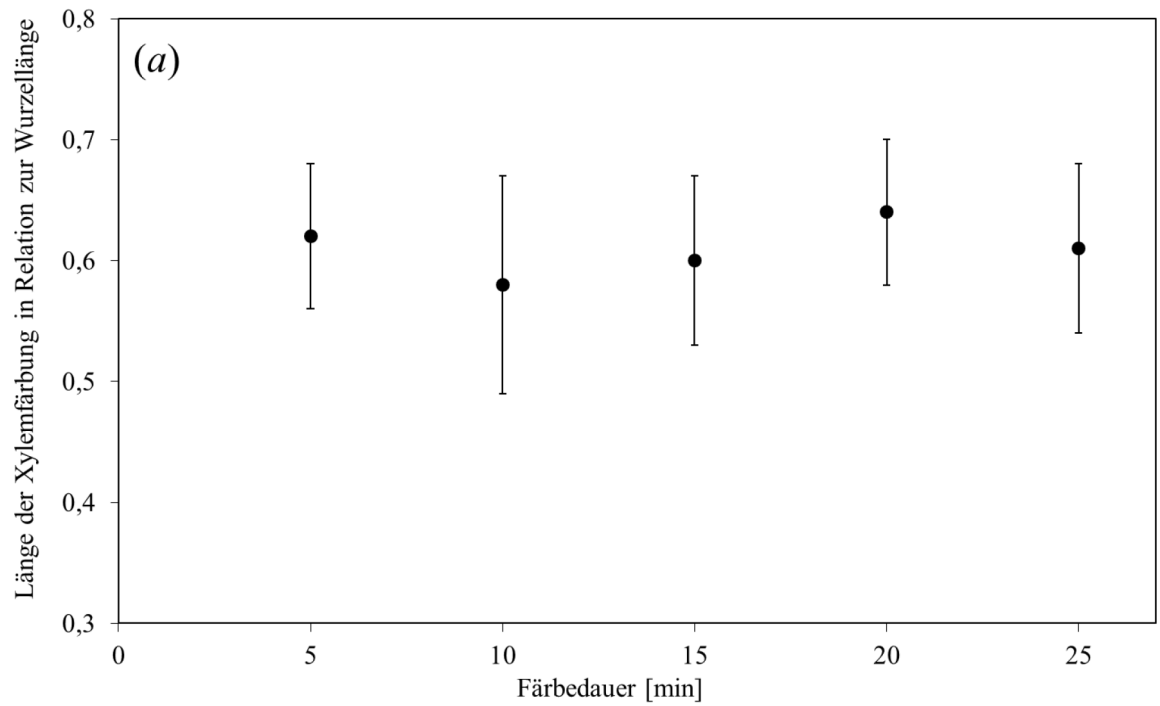


Abbildung 7: Osmotisch bedingter Einstrom des Evans Blau-Mediums in die Gefäße und Interzellularräume.

(a-c) Quetschpräparate. (a) Färbung der Gefäße nach Inkubation der isolierten Mais-Feinwurzel in einer hypertonen Evans Blau-Lösung (5 g l^{-1} Evans Blau und 100 mM Mannitol im Anzuchtmedium, $\pi_0 \approx 3,1 \text{ bar}$). (b) Ausbleiben der selektiven Färbung der Gefäße im hypotonischen Farbstoff-Medium. (c) Ende der spezifisch gefärbten Strecke in einem Xylemgefäß (Pfeil). (d) Medianer Querschnitt mit gefärbten Xylemgefäßen und dunkel erscheinenden gasgefüllten Interzellularräumen. (e, f) Die Farbstofflösung dringt in die infiltrierte Interzellularräume weiter ein als in die Xylemgefäße. Eine 11 mm lange isolierte Feinwurzel wurde in $0,5 \text{ mM}$ CaCl_2 mit Unterdruck infiltrierte und dann in eine hypertone Evans Blau-Lösung (10 g l^{-1}) überführt, welche zusätzlich 50 mM CaCl_2 und 100 mM Saccharose enthielt. (e) Querschnitt 6 mm hinter der Wurzelspitze, (f) 2 mm hinter der Wurzelspitze. Nahe der Spitze sind die Xylemgefäße ungefärbt, während ein Teil der kortikalen Interzellularräume gefärbt ist. Balken: (a, b) $100 \text{ }\mu\text{m}$, (c) $50 \text{ }\mu\text{m}$, (d-f) $25 \text{ }\mu\text{m}$.

Die relative Länge der Xylemfärbung (Verhältnis zwischen Eindringtiefe und Wurzellänge) änderte sich nicht signifikant, wenn die Inkubationsdauer der Wurzeln in der Farbstofflösung von 5 min bis auf 25 min erhöht wurde (Abbildung 8a). Die Standardabweichung der relativen Eindringtiefe der Farbstofflösung, betrug etwa 20 %. Das Verhältnis zwischen der maximalen Länge der gefärbten Gefäße und der Gesamtlänge der Wurzeln zeigte keine erkennbare Abhängigkeit von der Gesamtlänge der Wurzeln (Abbildung 8b) und stieg mit zunehmendem osmotischem Druck der Farbstofflösung an. In stark hypertonischen Farbstofflösungen wurden die Gefäße bis zur subapikalen Zone gefärbt (Abbildung 8c). Wurden die Wurzeln nach der Färbung für eine längere Zeit in Leitungswasser inkubiert, blieb die Färbung der Gefäße auf ihrer ganzen Länge erhalten (Abbildung 8d).



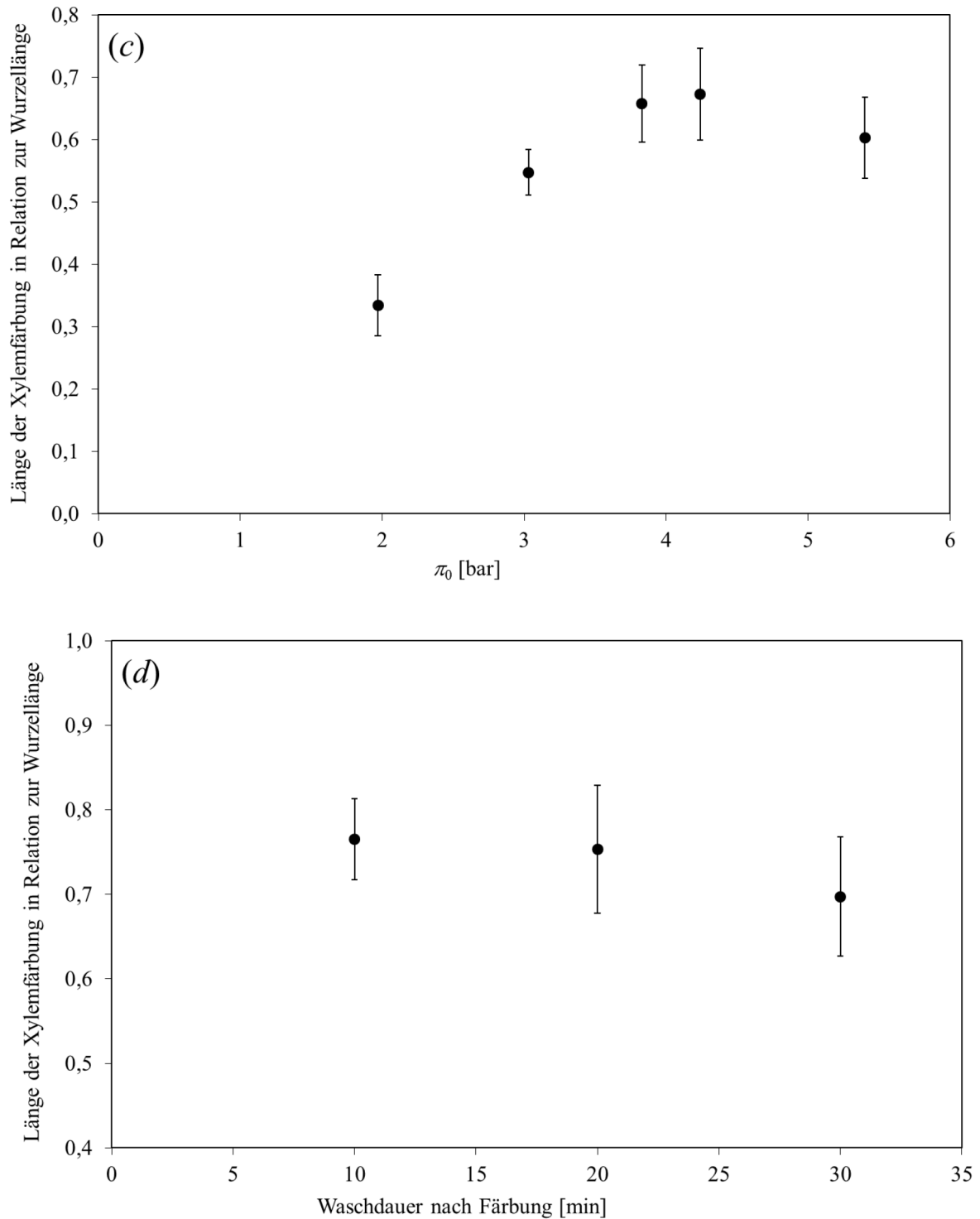


Abbildung 8: Relative Eindringtiefe der Evans Blau-Lösung in die Xylemgefäße in Abhängigkeit von verschiedenen Parametern.

Der osmotische Druck der Farbstofflösung betrug 5,5 bar (a, b) oder 4,1 bar (d). (a, c, d) Mittelwerte mit Standardabweichung für $n \geq 9$. Die mittlere relative Eindringtiefe in (b) betrug $0,63 \pm 0,07$ ($n = 57$).

2.2.1.3 Der Medianwert des osmotischen Druckes des Xylemsaftes in isolierten Seitenwurzeln

Die feinen Seitenwurzeln waren bezüglich des osmotischen Druckes, der zur Umkehr der Flussrichtung des Xylemsaftes führte, nicht uniform (Abbildung 9). In einer Farbstofflösung, welche zum Anzuchtmedium hypotonisch oder isotonisch war, wurde kein Einstrom in die Gefäße festgestellt. Bei einer Erhöhung des osmotischen Druckes der Evans Blau-Lösung (π_0) um ca. 0,5 bar gegenüber dem des Anzuchtmediums kam es bei einem geringen Anteil der Wurzeln zur Färbung der Gefäße. Erst bei einem osmotischen Druck, der mindestens 2 bar über dem des Anzuchtmediums lag, wurde das selektive Eindringen in die Xylemgefäße bei allen Seitenwurzeln festgestellt. Auch in diesem Fall wurden nicht immer alle Gefäße einer Wurzel gefärbt.

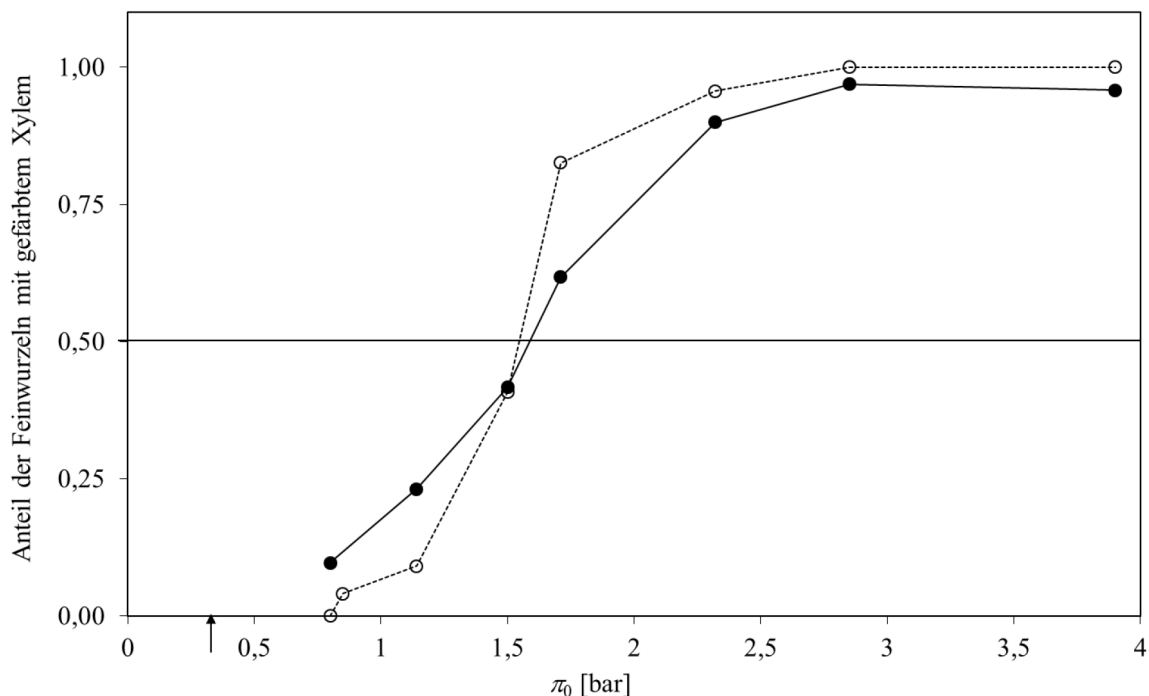


Abbildung 9: Abhängigkeit des Anteils von Feinwurzeln mit gefärbtem Xylem vom osmotischen Druck der Evans Blau-Lösung.

Für beide Experimente (Punkte, Kreise) wurden Feinwurzeln von jeweils 5 Maispflanzen abgetrennt und gemeinsam im Anzuchtmedium inkubiert. Anschließend wurden sie zur Bestimmung der Flussrichtung auf Farbstofflösungen unterschiedlicher Mannitolkonzentration verteilt. Jeder Datenpunkt repräsentiert die Daten aus der Untersuchung von mindestens 20 Feinwurzeln. Pfeil: π_0 des zur Anzucht der Pflanzen verwendeten Hoagland-Mediums.

Der Medianwert des osmotischen Druckes des Xylemsaftes in einer Stichprobe von Feinwurzeln entspricht dem osmotischen Druck des Mediums welches die Richtung des Xylemsaftflusses in der Hälfte der Feinwurzeln der Stichprobe umkehrt. Wie in Abschnitt

2.1.8 beschrieben, wurde der Medianwert des osmotischen Druckes des Xylemsaftes durch Messung der Anteile von Wurzeln mit selektiver Färbung der Xylemgefäße (Evans Blau-Methode) oder durch Visualisierung von Xylemsaftaustritt aus den Xylemgefäßen (Tusche-Methode) bei verschiedenen osmotischen Drucken der jeweiligen Testlösungen erfasst. Er entspricht in den in Abbildung 9 dargestellten Kurven dem osmotischen Druck des Mediums, bei dem der Anteil der Feinwurzeln mit hypotonischem Xylemsaft (gefärbtem Xylem) den Wert 0,5 erreicht. Mit der Evans Blau-Methode und der Tusche-Methode wurden ähnliche Werte des Medianwertes gefunden, wenn die Wurzeln aus einer gemeinsamen Stichprobe entstammten (Abbildung 10).

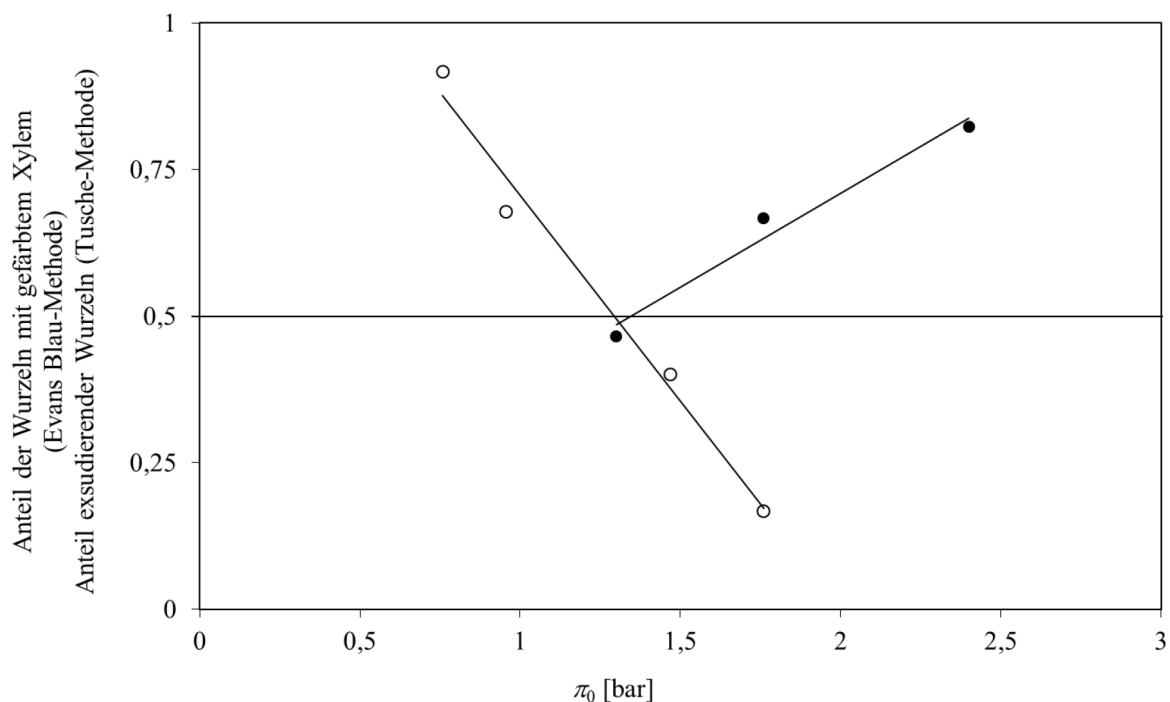


Abbildung 10: Bestimmung des Medianwertes des osmotischen Druckes des Xylemsaftes der Seitenwurzeln von Mais mit der Evans Blau-Methode und der Tusche-Methode.

Punkte: Evans Blau-Methode, Kreise: Tusche-Methode. Der osmotische Druck der Untersuchungsmedien wurde mit Natriumpolyacrylat (2100 g mol^{-1}) eingestellt. Jeder Punkt entspricht einer Zufallsprobe von 13 bis 30 Feinwurzeln, die einer gemeinsamen Sammelprobe entnommen wurden. Die Pflanzen wurden in Knop-Medium ($\pi_0 \approx 0,7 \text{ bar}$) angezogen und die Seitenwurzeln nach dem Abtrennen in diesem Medium inkubiert.

Wurden Pflanzen in einem Anzuchtmedium mit zusätzlichen 25 mM NaCl angezogen, so war der Median des osmotischen Druckes des Xylemsaftes in den Feinwurzeln gegenüber dem Median des osmotischen Druckes einer Kontrollgruppe welche ohne NaCl angezogen wurde signifikant erhöht (Tabelle 2).

Tabelle 2: Median des osmotischen Druckes im Xylemsaft der Feinwurzeln, welche mit unterschiedlicher Salzkonzentration des Mediums angezogen und äquilibriert wurden.

	Median des osmotischen Druckes des Xylemsaftes der Feinwurzeln [bar]	
Experiment	Anzucht in Knop-Medium mit zusätzlich 25 mM NaCl ($\pi_0 \approx 1,8$ bar)	Anzucht in Knop-Medium ohne 25 mM NaCl ($\pi_0 \approx 0,7$ bar)
1	2,1 2,0	1,6 1,5
2	2,3 2,1	1,8 1,5
Mittelwert \pm Konfidenzintervall*	2,12 \pm 0,15	1,56 \pm 0,15

Der Medianwert wurde mit der Evans Blau-Methode bestimmt. Abgetrennte Feinwurzeln von Mais wurden in ihrem jeweiligen Anzuchtmedium vorinkubiert. *Irrtumswahrscheinlichkeit 0,05 (n = 4).

Wurden die isolierten Feinwurzeln für 30 min in einem Medium inkubiert, welches 1% (55 mM) Glucose enthielt, so erhöhte sich der Medianwert des osmotischen Druckes um den Wert des osmotischen Partialdruckes (1,2 bar) der Glucose (Tabelle 3).

Tabelle 3: Medianwert des osmotischen Druckes im Xylemsaft der Feinwurzeln von Mais in Abhängigkeit vom osmotischen Druck des Anzuchtmediums und den Osmolyten im Testmedium.

Experiment	Osmotischer Druck des Inkubationsmediums [bar]	Osmolyt im Testmedium	Median des osmotischen Druckes des Xylemsaftes in den Feinwurzeln [bar]
I (Tusche - Methode)	1,5	NaCl Mannitol Melibiose	2,7 \pm 0,2 ^a 2,8 \pm 0,6 ^a 3,2 \pm 0,6 ^a
II (Evans Blau - Methode)	0,7	NaCl Mannitol PEG 600 Dextran 8	1,62 1,60 1,67 1,67
III (Evans Blau - Methode)	0,7	NaCl PEG 600 Dextran 8	1,53 1,50 1,47

Die isolierten Feinwurzeln von 9 d alten Pflanzen wurden für > 30 min im Anzuchtmedium (Knop-Medium) inkubiert. Das Inkubationsmedium in Experiment I enthielt zusätzlich 50 mM Glucose. Zur Bestimmung jedes Medianwertes wurden mindestens 50 Feinwurzeln untersucht. ^aMittelwerte von 5 Experimenten \pm Standardabweichung. Bei jedem Experiment wurden für die Bestimmung des Medianwertes Zufallsproben aus einem gemeinsamen Feinwurzelpreparat analysiert.

Der Median des osmotischen Druckes war nicht signifikant vom Molekulargewicht der Osmolyte, welche zur Einstellung des osmotischen Druckes der Untersuchungslösung verwendet wurden, abhängig (Tabelle 3).

Wurden an der Stele der im Kulturmedium exsudierenden Wurzelsysteme Exsudat gesammelt und anschließend die Medianwerte des osmotischen Druckes des Xylemsaftes in den isolierten Feinwurzeln der analysierten Wurzelsysteme bestimmt, so zeigte sich in allen Fällen, dass der Medianwert signifikant höher war als der osmotische Druck des Xylemexsudates des intakten Wurzelsystems (Tabelle 4).

Tabelle 4: Vergleich des Medianwertes des osmotischen Druckes im Xylemsaft mit dem osmotischen Druck des Exsudates der Hauptwurzel.

(A) Median des osmotischen Druckes im Xylem der Feinwurzeln [bar]	$1,67 \pm 0,14^a$
(B) Osmotischer Druck des Xylemexsudates der Hauptwurzel [bar]	$1,24 \pm 0,11^a$
Verhältnis zwischen A und B	$1,37 \pm 0,18^a$
Pearsons' Korrelations- Koeffizient für die Regression zwischen A und B	$0,61^b$

Der Medianwert des osmotischen Druckes im Xylemsaft der Feinwurzeln von Mais wurde mit der Evans Blau-Methode bestimmt. ^a Mittelwert \pm Konfidenzintervall ($n = 14$) für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,05. Der Unterschied zwischen (A) und (B) ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 10^{-4} signifikant. ^b Werte für (A) und (B) sind mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 0,05 korreliert. $\pi_0 \approx 0,7$ bar.

2.2.1.4 Einfluss von Glucose auf die Fähigkeit der isolierten Seitenwurzeln zur Abgabe von Xylemsaft

Der Anteil der Feinwurzeln mit einem zum Untersuchungsmedium hypertonischen Xylemsaft sank über einen Untersuchungszeitraum von mehreren Stunden stark ab, wenn es sich bei dem zugegebenen Osmolyten um Mannitol (30 mM) handelte. Wurden die Feinwurzeln in einem Medium mit 30 mM Glucose inkubiert welches dem Medium anstelle des Mannitols zugefügt war, sank der Anteil der Wurzeln, mit einem hypertonischen Xylemsaft wesentlich weniger oder gar nicht ab (Tabelle 5).

Tabelle 5: Abnahme des exsudierenden Anteils von Feinwurzeln in einem mannitol- oder glucosehaltigen Medium.

Experiment	Medium	Anteil der exsudierenden Feinwurzeln			
		Inkubationsdauer			
		30 min	120 min	180 min	220 min
I	Mannitol	0,67	0,44	0,12	
	Glucose	0,89	0,68	0,57	
II	Mannitol	0,71	0,70	0,50	0,34
	Glucose	0,76	0,76	0,78	0,71

Für jedes Experiment wurden die Feinwurzeln von mindestens 5 Maispflanzen entfernt und gemeinsam im Nährmedium (Hoagland) inkubiert, welches entweder 30 mM Mannitol oder 30 mM Glucose und jeweils 15 mM Na_2SO_4 enthielt ($\pi_0 \approx 1,6$ bar). Der Anteil der exsudierenden Wurzeln ($n \geq 20$) wurde mit der Tusche-Methode bestimmt. Alter der Pflanzen: Experiment I (7 d), Experiment II (14 d).

2.2.1.5 Stationäre Änderung des Xylemsaftflusses nach Änderung der radialen Wasserpotenzialdifferenz

Der Zeitverlauf des osmotisch getriebenen Xylemsaftflusses dekapitierter Wurzelsysteme wurde mit Hilfe eines empfindlichen Fluss-Sensors vor und nach der Änderung der osmotischen oder hydrostatischen Komponente der radialen Wasserpotenzialdifferenz aufgezeichnet. Um den Effekt einer hydrostatischen Druckdifferenz (Δp) auf den Xylemsaftfluss zu bestimmen, wurde entweder der Luftdruck über dem Wurzelmedium verändert oder die Höhe des Abflusses des Exsudates relativ zum Wurzelmedium geändert (vergl. Abbildung 3 in Abschnitt 2.1.9). Um eine osmotische Druckdifferenz ($\Delta \pi$) der gleichen Größenordnung auszuüben, wurde eine definierte Menge von PEG 600 zum Medium hinzugegeben. PEG 600 wurde wegen seiner geringen radialen Permeabilität (vergl. Abschnitt 2.2.1.10) für diese Untersuchungen gewählt. Das Ergebnis eines repräsentativen Experimentes ist in Abbildung 11a dargestellt.

Vor der Beeinflussung der Wasserpotenzialdifferenz war der Xylemsaftfluss konstant oder zeigte eine annähernd konstante langsame Änderung. Das Anlegen einer relativ kleinen osmotischen oder hydrostatischen Druckdifferenz induzierte eine moderate permanente Änderung des Exsudationsflusses. Diese stellte sich nach einer Übergangszeit von ca. 3 - 4 min ein und war an der Konstanz der Exsudationsgeschwindigkeit bzw. einem annähernd konstanten Trend der Flussänderung erkennbar. Sowohl der osmotische, als auch der hydrostatische Effekt auf den Exsudationsfluss waren reversibel. Die permanente Flussänderung (ΔJ_v) ergab sich, wie in Abbildung 11 dargestellt ist, aus der Rückwärts-Extrapolation des linearen Trends des Volumenflusses auf den Zeitpunkt der osmotisch oder hydrostatisch bedingten Änderung der Wasserpotenzialdifferenz. Nach einer Änderung des hydrostatischen Druckes (Δp) war die initiale Änderung des Exsudationsflusses wesentlich stärker als bei der osmotisch induzierten Flussänderung. Ihr Maximum wurde in diesem Fall ohne messbare Verzögerung erreicht. Osmotische Druckdifferenzen wirkten ebenfalls nahezu verzögerungsfrei auf den Xylemsaftfluss; die maximale Änderung des Xylemsaftflusses wurde jedoch erst nach 5 - 20 s erreicht und war weit weniger stark als nach Applikation einer hydrostatischen Druckdifferenz.

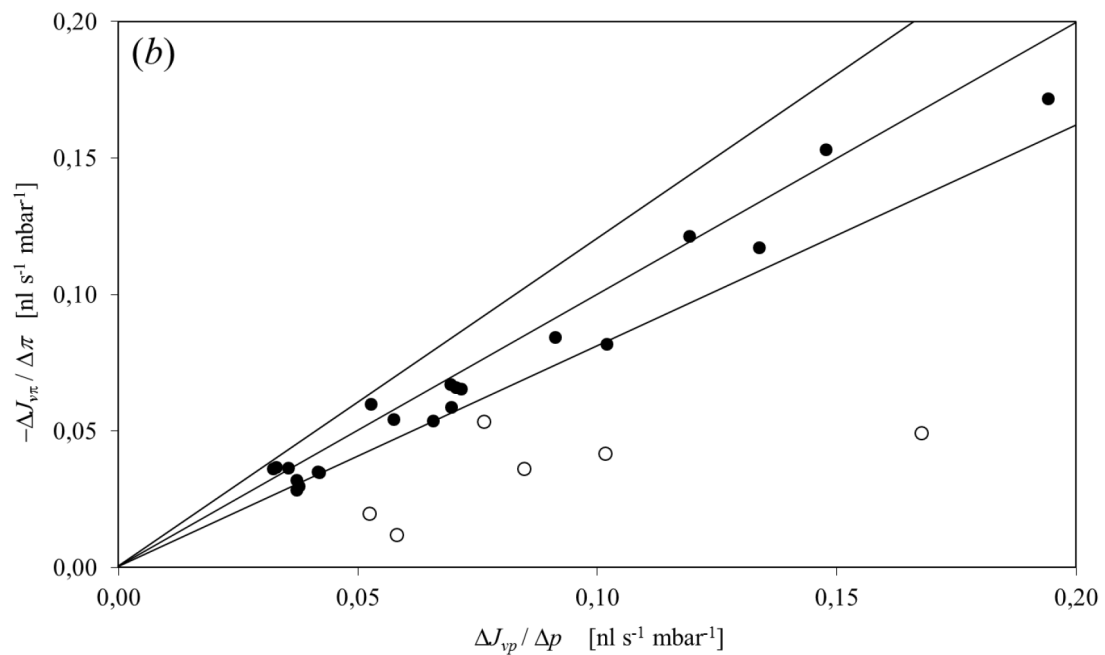
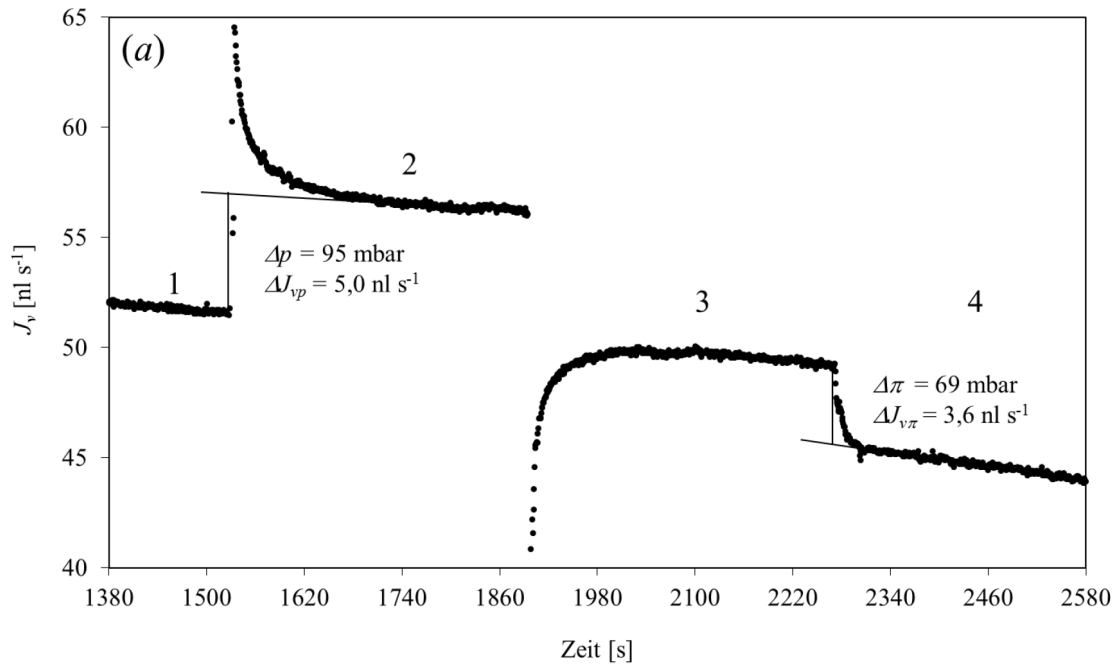


Abbildung 11: Hydraulische Wirksamkeit von Änderungen der radialen Differenz des osmotischen und hydrostatischen Druckes auf die Exsudation dekapitierter Wurzelsysteme.

(a) Wirkung der Applikation hydrostatischer und osmotischer Drucke. 1: Exsudation ohne Druckdifferenz im Hoagland-Medium; 2: Anlegen einer hydrostatischen Druckdifferenz in Flussrichtung ($\Delta p = 95$ mbar); 3: wie 1; 4: Exsudation nach Erhöhung des osmotischen Druckes des Wurzelmediums ($\Delta \pi = 69$ mbar) durch Zugabe von PEG 600. Experimenteller Aufbau wie in Abbildung 3a,b. (b) Vergleich der hydraulischen Wirksamkeit von Änderungen der hydrostatischen und osmotischen Druckdifferenz. Kreise: Wurzelsysteme wurden kurzzeitig aus dem Medium gehoben. Punkte: Wurzelsysteme wurden nie aus dem Medium gehoben. Obere und untere Linie entsprechen 20% Abweichung von der Identitätslinie (mittlere Linie).

Um einen Effizienzparameter bestimmen zu können, wurde die permanente Änderung des stationären Flusses ΔJ_v bestimmt und zur Änderung des applizierten osmotischen bzw. hydrostatischen Druckes (Δp , $\Delta \pi$) ins Verhältnis gesetzt. Bei Wurzelsystemen, welche vor Versuchsbeginn nicht aus dem Hydrokulturmedium entfernt wurden (Punkte), waren die Effizienz der osmotisch bedingten Flussänderung ($-\Delta J_{v\pi}/\Delta \pi$) und die Effizienz der hydrostatisch bedingten Flussänderung ($\Delta J_{vp}/\Delta p$) nicht signifikant verschieden (Abbildung 11b). Der gemittelte Quotient zwischen osmotischer und hydrostatischer Effizienz war $0,88 \pm 0,20$ ($n = 20$). Bei Wurzelsystemen welche vor Untersuchungsbeginn kurzfristig aus dem Medium entfernt worden waren (Abbildung 11b, Kreise) war die Effizienz der hydrostatischen Änderung signifikant größer als die Effizienz der osmotischen Änderung.

In Kontrollexperimenten mit exsudierenden Wurzelsystemen, in welchen 5 - 10 Seitenwurzeln zweiter Ordnung abgetrennt wurden, zeigte sich nahezu unverzüglich eine Verringerung des Volumenflusses. Außerdem war die Effizienz der hydrostatisch induzierten Volumenflussänderung durch das Abtrennen deutlich vergrößert, während die Effizienz der osmotisch induzierten Flussänderung nicht signifikant beeinflusst wurde.

2.2.1.6 Überganskinetik des Xylemsaftflusses nach Veränderung der radialen Differenz des hydrostatischen Druckes

Um den Einfluss der Messapparatur zur Bestimmung der Xylemsaftflusses (vergl. Abbildung 3) z.B. durch die Elastizität der Verbindungsschläuche zum Fluss-Sensor, oder sonstige elastische Volumenrelaxationen auf die Messergebnisse nach hydrostatischer Druckanwendung auszuschließen, wurde ein Kontrollexperiment durchgeführt, bei welchem ein Kapillarwiderstand (*fused silica*-Kapillare) anstelle der Wurzel mit dem Fluss-Sensor verbunden wurde. In diesem Fall stellte sich der neue Fluss nach Veränderung der hydrostatischen Druckgradienten unverzüglich ein (Abbildung 12a). Hieraus kann abgeleitet werden, dass die Überganskinetik des Xylemsaftflusses nach Druckänderung auf Eigenschaften der Wurzel und nicht des Messsystems beruht.

Nach Applikation einer hydrostatischen Druckdifferenz auf Seite des Wurzelmediums änderte sich der Volumenfluss aus dem Xylem nahezu unverzüglich innerhalb einer Sekunde und erreichte dabei seine maximale Änderung (Abbildung 12b).

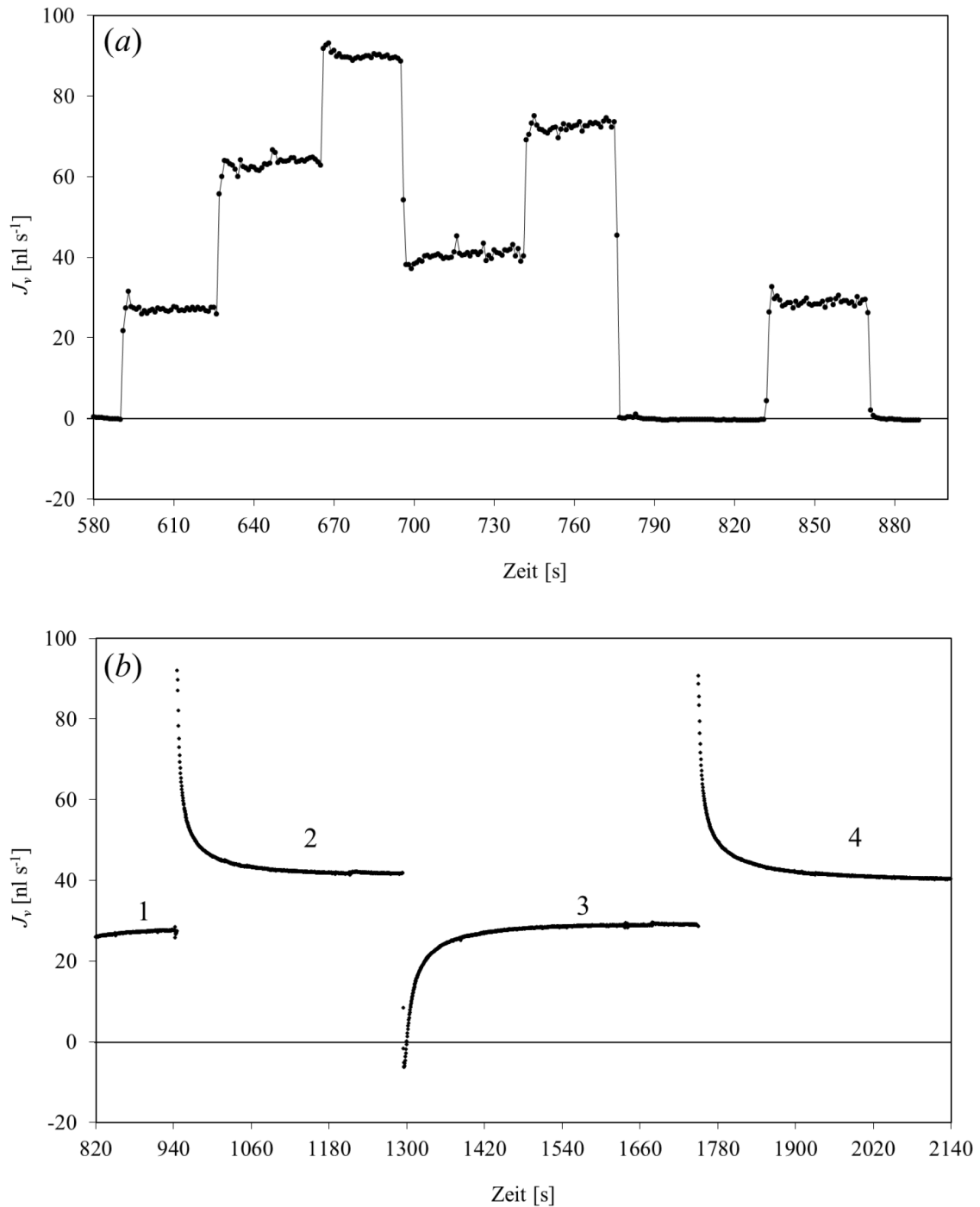


Abbildung 12: Beweis, dass die vorübergehende Reaktion des Volumenflusses auf Anlegen einer radialen hydrostatischen Differenz in der Wurzel verursacht wird.

(a) Kontrollexperiment mit einer Mikrokapillare (*fused silica*) welche an Stelle einer Wurzel mit dem Fluss-Sensor verbunden wurde. Schrittweise Veränderungen des hydrostatischen Druckgradienten bis zu 80 mbar verursachen konstante Änderungen des Volumenflusses ohne deutliche vorübergehende Reaktion. (b) Vergleichsexperiment mit einer Maiswurzel. Druckänderungen verursachen eine starke und schnell abklingende Änderung des Xylemsaftflusses, welche anfänglich die permanente Änderung weit übersteigt. Phasen 1 und 3: Verringerung des atmosphärischen Druckes über dem Wurzelmedium um 80 mbar; Phasen 2 und 4: Exsudation ohne Druckdifferenz zwischen dem austretenden Xylemsaft und dem Medium. Die Experimente wurden mit dem in Abbildung 3b gezeigten Aufbau durchgeführt.

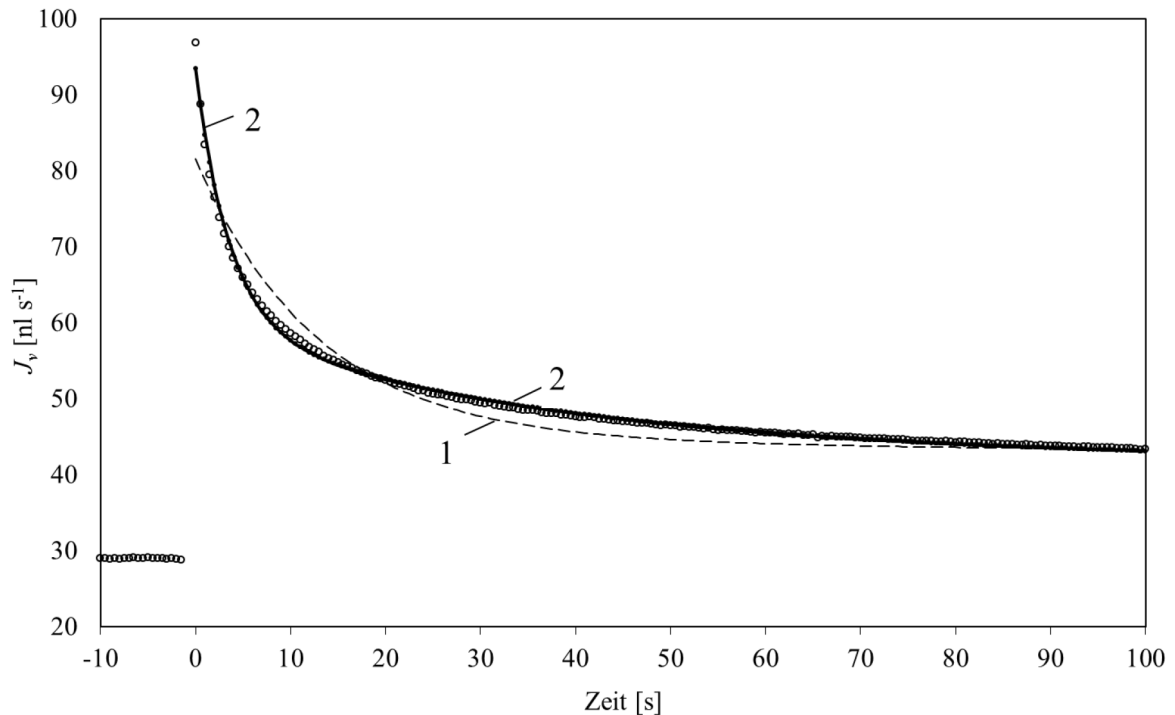


Abbildung 13: Beschreibung der hydrostatisch bedingten Xylemsaftflussänderung mit zwei verschiedenen Funktionsgleichungen.

Der gemessene Fluss ist durch Kreise dargestellt. Die gestrichelte Linie (1) repräsentiert die am besten angepasste numerische Variante von Gleichung 7 ($J = 44,37 \text{ nl s}^{-1} + 37,13 \text{ nl s}^{-1} e^{-0,078 t} - 0,011 \text{ nl s}^{-2} t$), die durchgezogene Linie (2) die am besten angepasste numerische Variante von Gleichung 8 ($J = 42,5 \text{ nl s}^{-1} + 33,6 \text{ nl s}^{-1} e^{-0,28t} + 17,3 \text{ nl s}^{-1} e^{-0,033t} - 0,006 \text{ nl s}^{-2} t$). Messwerte entsprechen denjenigen in Abbildung 12b (Phase 4). Die Zeitachse wurde zum Zeitpunkt der Druckänderung ($\Delta p = 80 \text{ mbar}$) auf null gesetzt.

Die Kinetik des Übergangs von der maximalen zur neuen permanenten Änderung ließ sich nicht mit einer einfachen Exponentialgleichung beschreiben (Gleichung 7); dies war jedoch wie in Abbildung 13 dargestellt mit der Summe zweier Exponentialgleichungen (Gleichung 8) möglich (vergl. Absatz 2.1.9). Die numerische Anpassung an die Messwerte wurde durch Einführen einer dritten Exponentialgleichung nicht signifikant verbessert (nicht gezeigt). Die durch das verwendete Iterationsverfahren bestimmten Zeitkonstanten der schnell und der langsam abklingenden Prozesse, welche die beste Übereinstimmung zwischen der Modellfunktion und den Messwerten ergeben, waren sehr unterschiedlich (Tabelle 6). Die Zeitkonstante (α_1) der schnellen initialen Flussänderung betrug nur wenige Sekunden. Der schnelle Prozess war demnach bereits nach 20 bis 30 s soweit abgeklungen, dass sein Einfluss auf den Xylemsaftfluss vernachlässigbar wurde. Seine Amplitude (A_1) war deutlich größer als die Amplitude der langsam abklingenden Flussänderung (A_2). Die Zerfallskonstante und die daraus resultierende Halbwertszeit der langsam abklingenden Fluss-

änderung nach hydrostatischer Kraftanwendung waren denen des osmotischen Effekts sehr ähnlich (vergl. Tabelle 7 in Abschnitt 2.2.1.7).

Tabelle 6: Parameter von Gleichung 8 welche die Kinetik der Flussänderung nach Applikation eines hydrostatischen Druckgradienten beschreiben (vergl. Abbildung 14, Abbildung 16).

Schnell abklingende Flussänderung	
$A_1 / \Delta J_{vp}$	$5,5 \pm 3,8$
Geschwindigkeitskonstante und Halbwertszeit	
$\alpha_1 [\text{s}^{-1}]$	$0,277 \pm 0,55$
$\tau_1 [\text{s}]$	$3,6 \pm 1,8$
Integral des zugehörigen Volumenflusses	
$\Delta V_1 = \int_0^{\infty} A_1 e^{-\alpha_1 t} [\text{nl Wurzel}^{-1}]$	122
Langsam abklingende Flussänderung	
$A_2 / \Delta J_{vp}$	$0,85 \pm 0,33$
Geschwindigkeitskonstante und Halbwertszeit	
$\alpha_2 [\text{s}^{-1}]$	$0,031 \pm 0,06$
$\tau_2 [\text{s}]$	$32,5 \pm 16,6$
Integral des zugehörigen Volumenflusses	
$\Delta V_2 = \int_0^{\infty} A_2 e^{-\alpha_2 t} [\text{nl Wurzel}^{-1}]$	251

Mittelwerte von 70 Experimenten mit 22 Wurzeln ($\Delta p = 60$ bis 85 mbar). Mittleres Wurzelgewicht: $2,1 \pm 0,8$ g. Die Integration erfolgte über die Zeitspanne vom Beginn der Druckapplikation bis zum Erreichen des neuen Fließgleichgewichts.

Durch Integration beider Exponentialfunktionen wurde das Xylemsaftvolumen

($\Delta V = \int_0^{\infty} A_1 e^{-\alpha_1 t}$), welches während des schnell abklingenden Prozesses aus den Xylemgefäßen axial herausströmte (oder in diese einströmte) und der entsprechende Wert für den langsamer abklingenden Prozess bestimmt. Der Vergleich zeigt, dass ΔV_1 während der initialen schnell abklingenden Flussänderung etwa halb so groß war wie ΔV_2 während der anschließenden relativ langsam vorübergehenden Flussänderung.

Für eine Analyse der Ursachen und der Lokalisation des vorübergehenden hydraulischen Effektes nach einer moderaten hydrostatischen Druckapplikation wurden Wurzelsysteme an verschiedenen Stellen gekürzt und die Schnittstellen mit Cyanacrylatkleber strömungsdicht verschlossen (Abbildung 14). Nach dem Entfernen und Verschluss der Seitenwurzeln verringerte sich die Exsudationsgeschwindigkeit um ca. 95 %. Wurde an die von den Seitenwurzeln befreite Wurzel eine hydrostatische Kraft angelegt, verschwand die langsam abklingende Flussänderung fast vollständig, während die schnelle Komponente erhalten blieb (vergl. Abbildung 14a und b). Die Zeitkonstante der schnell abklingenden Exponentialfunktion wurde durch das Abtrennen des verhältnismäßig großen unverzweigten Teils der Hauptwurzel nicht beeinflusst (vergl. Abbildung 14c und d), die Amplitude verringerte sich jedoch deutlich. Selbst in einem radikal gekürzten basalen Stück des Wurzelsystems ohne Seitenwurzeln blieb die schnell abklingende Komponente der vorübergehenden Flussänderung nach Druckapplikation erhalten, wobei die Amplitude stark verringert war (Abbildung 14e).

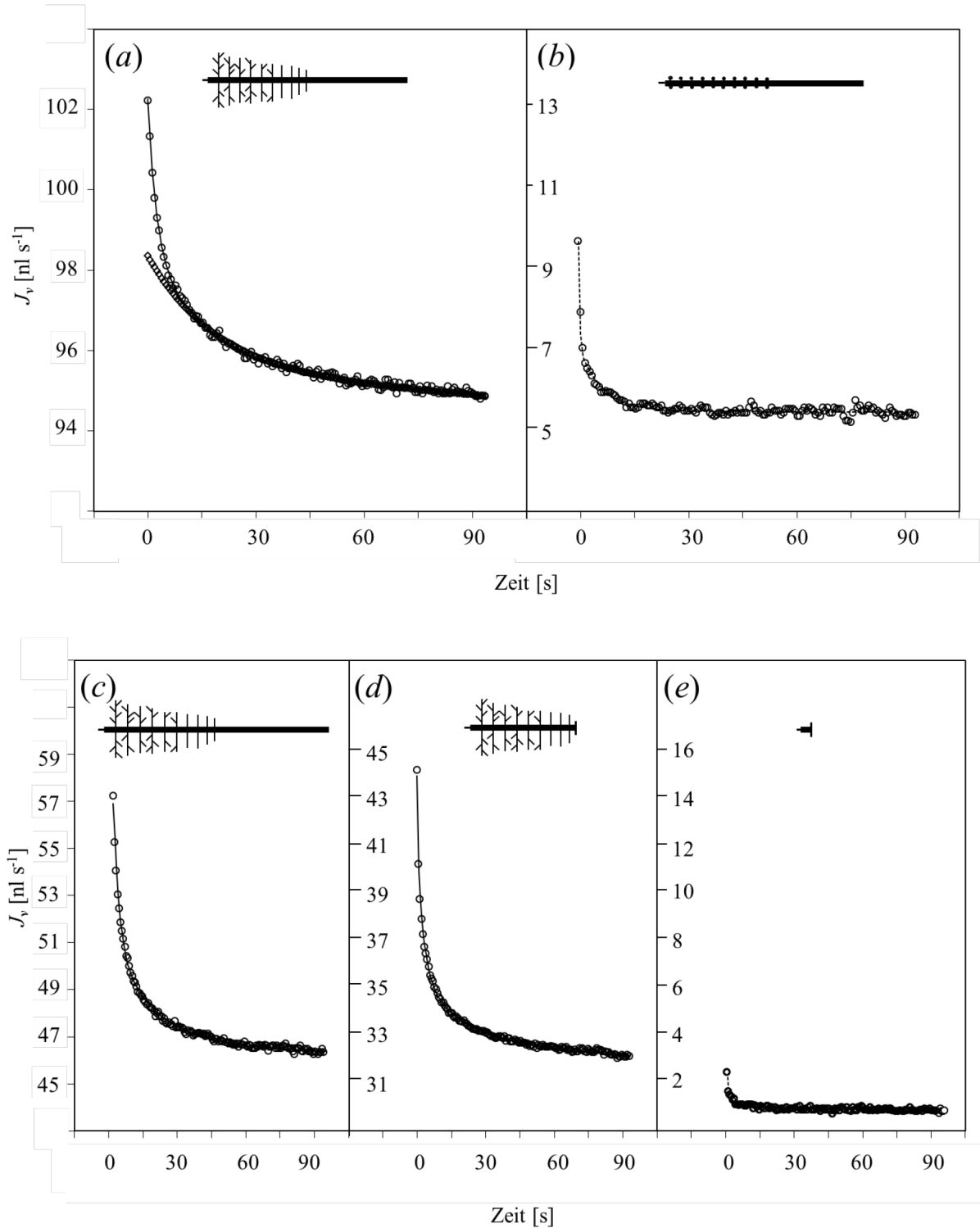


Abbildung 14: Ursache der schnell abklingenden Initialänderung des Xylemsaftflusses, welche nach Veränderung der radialen Druckdifferenz an einem verzweigten Wurzelsystem beobachtet wird.

Der Volumenfluss wurde durch Entfernen eines hydrostatischen Gegendruckes auf den Xylemsaft ($\Delta p = 70$ mbar) verstärkt (vergl. Abbildung 3a). (a) Intaktes Wurzelsystem: Der Volumenfluss wird durch Gleichung 8 (Linie) in der Form $J = 92,5 \text{ nl s}^{-1} + 5,0 \text{ nl s}^{-1} e^{-0,43t} + 3,0 \text{ nl s}^{-1} e^{-0,058t} - 0,007 \text{ nl s}^{-2} t$ numerisch beschrieben. Nach einer Übergangsphase von ca. 15 s wird der schnell abklingende Änderungsprozess vernachlässigbar und der Fluss kann mit einer Exponentialgleichung allein adäquat beschrieben werden. Rhomben zeigen eine Funktion, die durch Subtraktion des schnell

abklingenden Terms erhalten wird: $J = 92,5 \text{ nl s}^{-1} + 3,0 \text{ nl s}^{-1} e^{-0,058t} - 0,007 \text{ nl s}^{-2} t$. (b) Die gleiche Wurzel wie in (a) nach Entfernen der Seitenwurzeln. Die langsam abklingende Funktion ist nicht mehr nachweisbar, so dass der Volumenfluss nach der Druckapplikation mit Gleichung 7 (gestrichelte Linie) adäquat beschrieben wird: $J = 5,5 \text{ nl s}^{-1} + 3,85 \text{ nl s}^{-1} e^{-0,22t} - 0,0002 \text{ nl s}^{-2} t$. (c) Intaktes Wurzelsystem mit einer Hauptwurzel von 28 cm Länge. Die numerische Anpassung an Gleichung 8 ergibt: $J = 46,6 \text{ nl s}^{-1} + 6,08 \text{ nl s}^{-1} e^{-0,36t} + 4,2 \text{ nl s}^{-1} e^{-0,54t} - 0,003 \text{ nl s}^{-2} t$. (d) Die gleiche Wurzel wie in (c) nach Entfernen des apikalen unverzweigten Segments (Restlänge 14 cm). Das Anpassungsverfahren ergibt eine numerische Gleichung mit wenig veränderten Parametern: $J = 32,7 \text{ nl s}^{-1} + 8,1 \text{ nl s}^{-1} e^{-0,49t} + 3,0 \text{ nl s}^{-1} e^{-0,03t} - 0,003 \text{ nl s}^{-2} t$. (e) Ein basales seitenwurzelfreies Ende (ca. 4cm) der in (c) und (d) analysierten Wurzel. Die numerische Anpassung lässt nur noch die schnell abklingende Flussänderung erkennen: $J = 1,03 \text{ nl s}^{-1} + 1,3 \text{ nl s}^{-1} e^{-0,66t} - 0,0003 \text{ nl s}^{-2} t$. Nach Entfernen des Spitzensegmentes oder der Seitenwurzeln wurden die Schnittstellen mit Cyanacrylatkleber verschlossen. Die numerisch am besten angepasste Funktion (Gleichung 8: Linie; Gleichung 7: gestrichelte Linie) ist zusätzlich zu den Messpunkten (Kreise) dargestellt.

Wurde der Luftdruck über dem Wurzelsystem mit hoher Frequenz (bis zu 0,25 Hz) geändert, folgte die Flussänderung der Druckänderung unverzögert. Im untersuchten Frequenzbereich erhöhten sich die Amplituden der Flussänderung mit zunehmender Frequenz der Druckänderung (Abbildung 15).

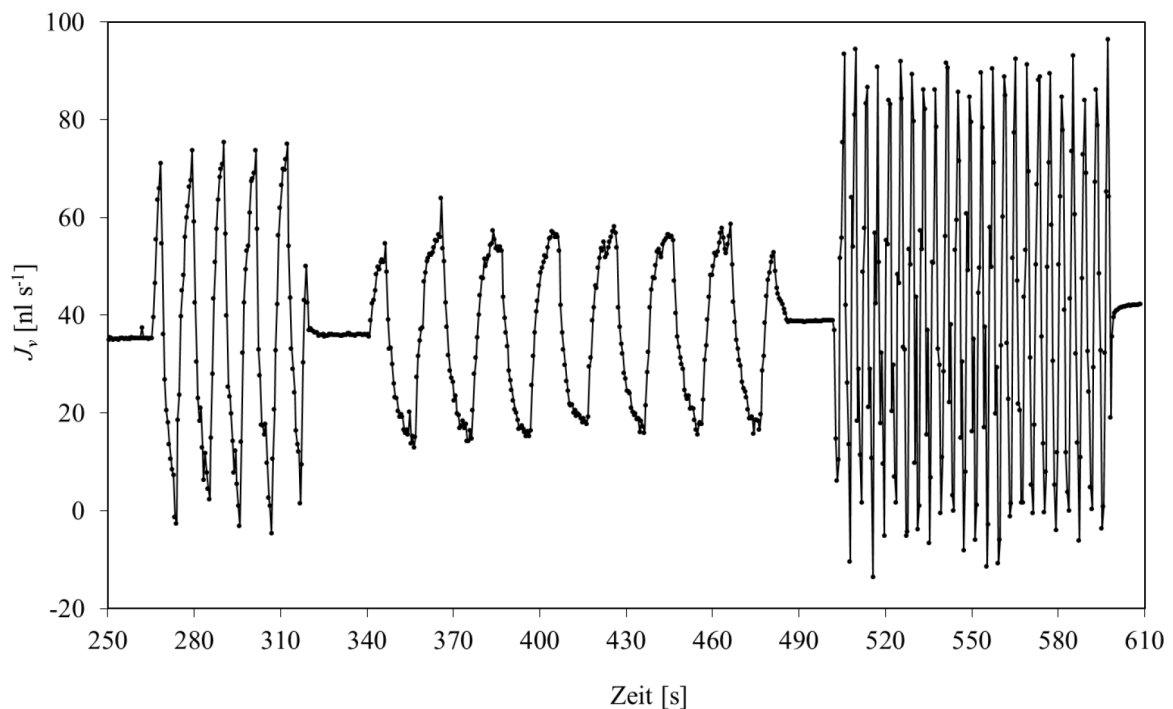


Abbildung 15: Reaktion des Xylemsaftflusses auf oszillierende Druckänderungen ($\Delta p \pm 250$ mbar)

Die Oszillationen der radialen Druckdifferenz wurden durch Variation des Luftdruckes über dem Wurzelmedium generiert (vergl. Abbildung 3c).

2.2.1.7 Übergangskinetik des Xylemsaftflusses nach Erhöhung des osmotischen Druckes im Medium

Nach der Änderung des osmotischen Druckes im Medium kam es im Verlauf von etwa 20 s zu einer deutlichen Verminderung des Volumenflusses, welche der permanenten Änderung in ihrer Größe entsprach oder größer als diese war. Bei der Exsudation in einer stark verdünnten Lösung war der Absolutwert der maximalen Flussänderung größer, die prozentuale Änderung jedoch kleiner als bei Exsudation in einem Hoagland-Medium welches zusätzlich 30 mM NaCl enthielt. Bei den im verdünnten Medium durchgeführten Experimenten war der Quotient zwischen initialer (ΔJ_{\max}) und permanenter Änderung der Flussrate ($\Delta J_{v\pi}$) geringer als bei solchen, die bei höherer Salzkonzentration durchgeführt wurden (Tabelle 7).

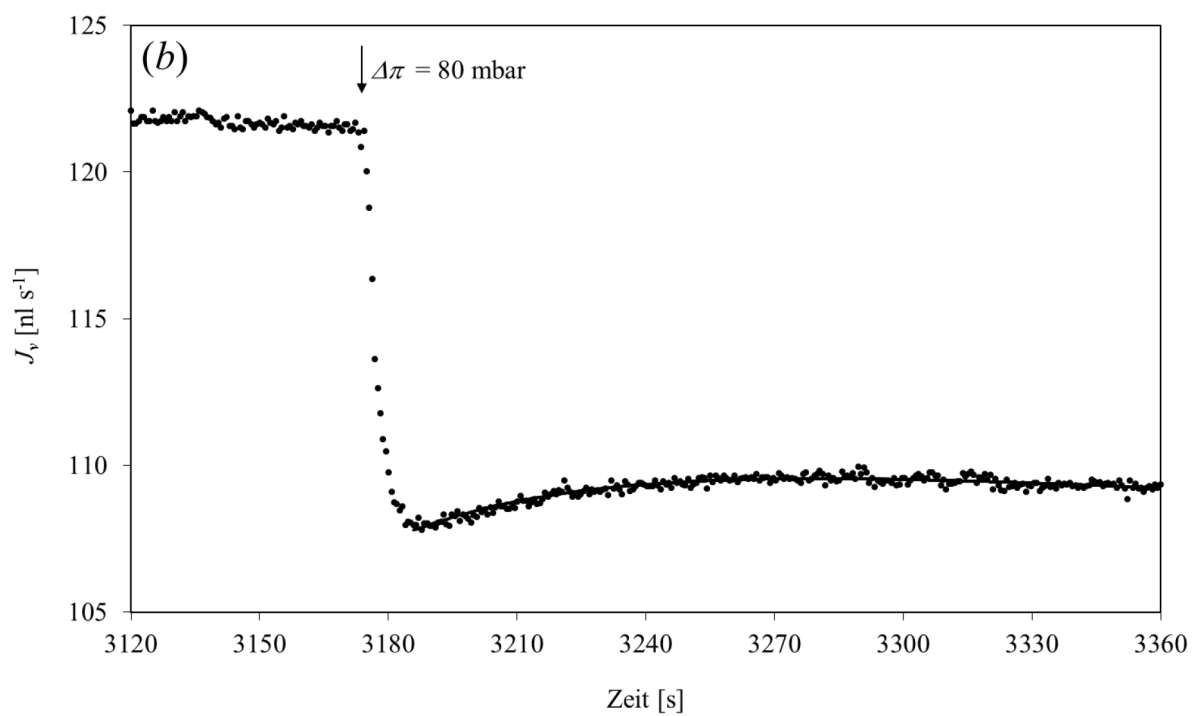
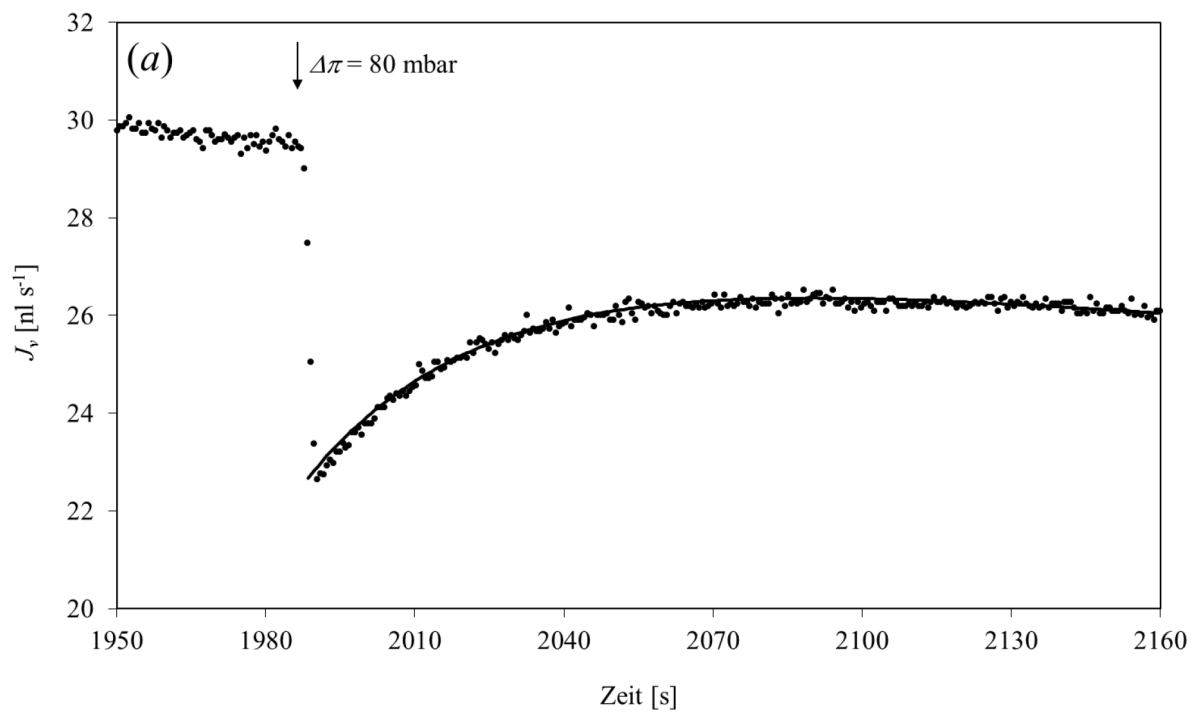
Tabelle 7: Parameter der osmotisch bedingten Hemmung des Xylemsaftflusses in Medien mit hohem und niedrigem Salzgehalt (vergl. Abbildung 16).

	0,5 mM CaCl_2	Hoagland-Medium + 30 mM NaCl
Fluss vor der Hemmung J^0 [nl s^{-1} Wurzel $^{-1}$]	$75,3 \pm 3,5$	$21,2 \pm 6,8$
Maximale Flussreduktion ΔJ_{\max} [nl s^{-1} Wurzel $^{-1}$] [Prozent von J^0]	$8,1 \pm 4,5$ $10,3 \pm 2,6$	$3,1 \pm 1,9$ $14,2 \pm 5,0$
Permanente Flussreduktion $\Delta J_{v\pi}$ [nl s^{-1} Wurzel $^{-1}$] [Prozent von J^0]	$6,9 \pm 3,5$ $9,0 \pm 1,8$	$1,1 \pm 0,5^a$ $5,2 \pm 1,4^b$
$\Delta J_{\max} / \Delta J_{v\pi}$	$1,1 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,6^b$
Halbwertszeit des Überganges von der maximalen Flussreduktion zur stationären Flussreduktion τ [s]	nicht bestimmt	$33,4 \pm 1,1$

14 Tage alte Pflanzen wurden einen Tag vor dem Experiment in die entsprechenden Medien umgesetzt. Die osmotische Hemmung des Volumenflusses erfolgte durch Zugabe von PEG 600 ($\Delta C = 1,66 \text{ g l}^{-1}$, $\Delta \pi = 65 \text{ mbar}$). Mittelwerte mit Standardabweichung. ^{a, b} Der Unterschied zwischen den jeweiligen Parametern ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1 % (a) bzw. 0,01% (b) signifikant (T-Test).

Bei hohen Salzkonzentrationen wurde stets ein deutlicher Anstieg der Exsudationsgeschwindigkeit beim Übergang aus dem anfänglichen temporären Minimum zum veränderten stationären Fluss festgestellt (vergl. Abbildung 16a, b)

Die Kinetik des Überganges von der maximalen Hemmung bis zum neuen stationären Fluss ließ sich in den Fällen, in denen ein anfängliches Maximum der Flusshemmung deutlich sichtbar war, mit einer Exponentialgleichung erster Ordnung (Gleichung 7) beschreiben. Die Halbwertszeit betrug 33 s. Wurde PEG 600 in mehreren Schritten dem Medium zugegeben, vergrößerte sich das Verhältnis zwischen der maximalen und der permanenten Flussänderung sukzessiv (Abbildung 16c).



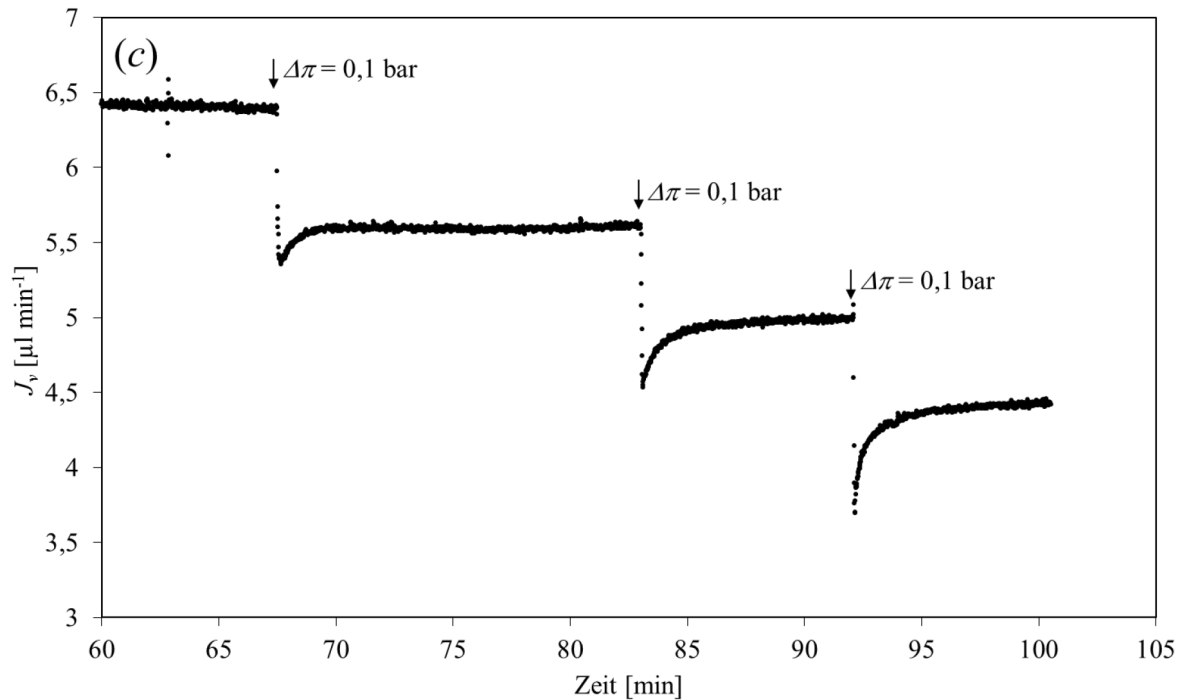


Abbildung 16: Osmotisch bedingte Flussänderung nach der Zugabe von PEG 600 bei niedrigem und hohem osmotischem Druck des Mediums.

(a) Wurzelsystem in Hoagland-Medium mit zusätzlich 30 mM NaCl. (b, c) Wurzelsystem in einer 0,5 mM CaCl_2 -Lösung. (a, b) Beide Maiswurzelsysteme waren annähernd gleich groß. Die mit der Linie dargestellte Funktion entspricht der numerischen Anpassung von Gleichung 7 an den gemessenen Fluss (Punkte). (c) Einfluss der sukzessiven Zugabe von PEG auf die Exsudation. Zwei vorhergehende PEG Zugaben ($\Delta\pi = 0,1$ bar) sind nicht dargestellt.

2.2.1.8 Wirkung der passiven radialen Permeation auf die osmotische Hemmung des Xylemsaftflusses

Die Untersuchung der Kinetik der osmotisch bedingten Flusshemmung wurde auch mit solchen Osmolyten, die bekanntlich sehr schnell durch die Plasmamembran permeieren, durchgeführt. Um toxische Effekte zu vermeiden, wurden die Substanzen in einer niedrigen Konzentration (3 mM, 72 mbar) eingesetzt. Abbildung 17 zeigt den Verlauf des Xylemsaftflusses in einem Experiment, welches mit der relativ großen Wurzel einer 18 Tage alten Maispflanze durchgeführt wurde. Die Wurzel wurde zuvor vom Hoagland-Medium auf ein Medium mit geringer Salzkonzentration überführt. Bei solchen Experimenten wird anfangs ein starker Xylemsaftfluss erreicht, der jedoch allmählich abnimmt.

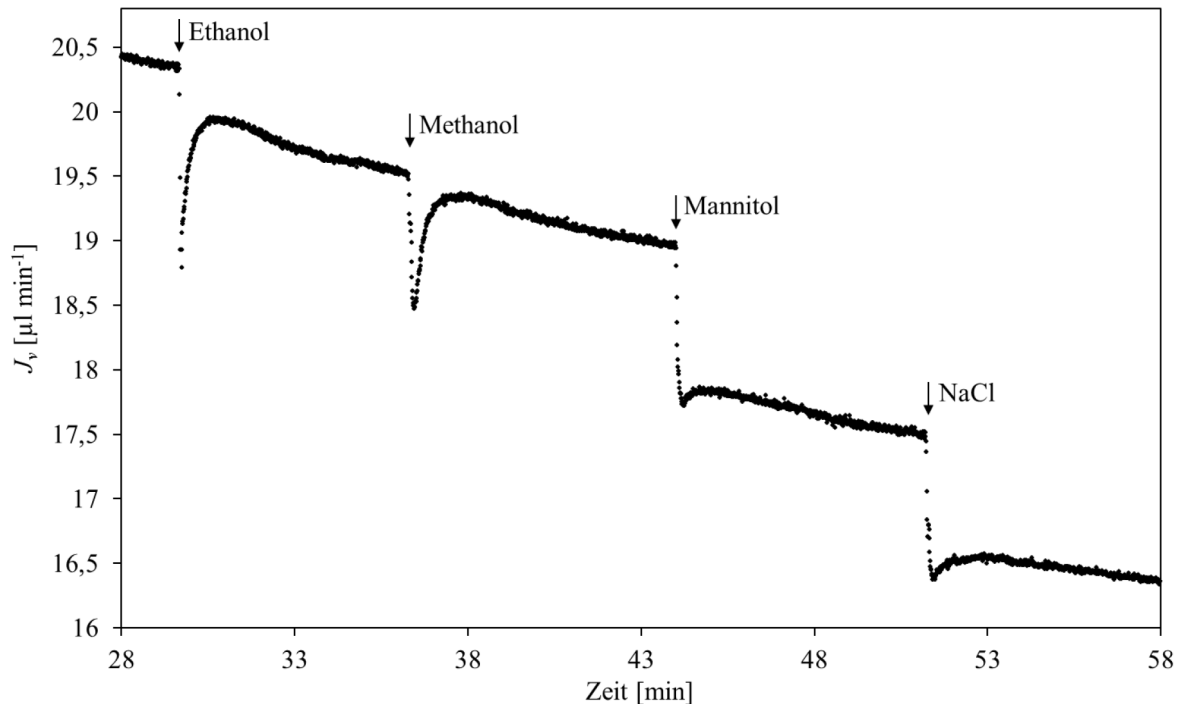


Abbildung 17: Einfluss kleiner Veränderungen des osmotischen Druckes (72 mbar) des Mediums durch Zugabe von Osmolyten mit hoher und geringer Permeabilität an Plasmamembranen. Die Pflanze wurde 14 d auf einem Hoagland-Medium angezogen und direkt vor Untersuchungsbeginn auf ein Medium umgesetzt welches 3 mM CaCl_2 und 1 mM KNO_3 enthielt. Das Wurzelgewicht betrug 2,5 g.

Nach der Zugabe von Mannitol oder NaCl unterschied sich die permanente Hemmung nicht oder nur wenig von der initialen Hemmung, wie es bereits bei vergleichbaren Experimenten mit PEG 600 dargestellt wurde (vergl. Abbildung 16). Nach Zugabe von Ethanol und Methanol war wie bei allen anderen Osmolyten das Maximum der osmotischen Flusshemmung in sehr kurzer Zeit erreicht, die Flusshemmung wurde aber in kurzer Zeit wieder weitgehend aufgehoben. In allen Fällen war im Fall der Zugabe von Methanol ($\Delta C = 3$ mM) innerhalb von zwei bis drei Minuten der größte Teil der anfänglichen Hemmung wieder aufgehoben, so dass im Durchschnitt die permanente Hemmung nur etwa 16 % der anfänglichen betrug (Tabelle 8). Bei Zugabe von Ethanol war stets eine stärkere permanente Hemmung festzustellen. Sie betrug im Durchschnitt 25 % der initialen Hemmung. Überraschenderweise erreichte die initiale Hemmung nach Zusatz von Ethanol oder Methanol, in der sich die hydraulische Wirksamkeit des initialen osmotischen Gradienten am besten ausdrückt, immerhin etwa 60 % der Hemmung, die an den gleichen Wurzeln durch Zugabe von Mannitol in isotonischer Konzentration gemessen wurde.

Tabelle 8: Initiale Maximaländerung und permanente Änderung des Xylemsaftflusses nach Zugabe verschiedener Osmolyte zum Medium.

Osmolyt	Maximale Flusshemmung in % der maximalen Flusshemmung durch Mannitol*	Permanente Flusshemmung in % der maximalen Flusshemmung
Mannitol	100 (n = 9)	97,0 ± 4,6 (n = 12)
PEG 600	96,9 ± 9,2 (n = 4)	87,4 ± 11,0 (n = 4)
NaCl	103,4 ± 5,9 (n = 11)	84,3 ± 10,1 (n = 12)
Ethanol	61,9 ± 19,3 (n = 14)	25,0 ± 15,6 (n = 20)
Methanol	62,3 ± 21,3 (n = 17)	15,9 ± 11,7 (n = 23)

* Die Änderung des osmotischen Druckes betrug in allen Varianten 72 mbar.

2.2.1.9 Wirkung der Nitrationen auf den Volumenfluss

In weiteren Experimenten wurde die Kinetik der Xylemsaftexsudation nach der Zugabe relativ geringer Mengen eines Osmolyten analysiert, für den ein effizientes System der Aufnahme in den Symplasten existiert. Da Nitrat ein xylemmobiles Anion darstellt und von Getreidewurzeln mit Hilfe eines durch Nitrat induzierbaren Protonen-Symporters aufgenommen wird (Glass et al., 2002), wurde KNO_3 für diese Untersuchung ausgewählt. Um den Effekt des symplastischen Radialtransportes dieses Osmolyten erfassen zu können, wurden die Pflanzen kurz vor der Untersuchung aus dem nitrathaltigen Hoagland-Medium auf ein nitratfreies Calciumchlorid-Medium überführt. Nach Zugabe von KNO_3 ($\Delta C = 1,5$ mM) erfolgte eine osmotisch bedingte Hemmung des Xylemsaftflusses. Letztere wurde bereits nach 2 min durch eine starke Stimulation der Xylemsaftausscheidung kompensiert (Abbildung 18). Bereits wenige Minuten nach der Zugabe von KNO_3 lag der Fluss weit über dem ursprünglichen Wert (Abbildung 18a, b, Tabelle 9). Danach stieg er weiter allmählich an. Wurde KNO_3 nochmals hinzugegeben (Abbildung 18b) oder enthielt das Medium bereits KNO_3 in einer die Transporter sättigenden Konzentration, blieb der starke Stimulations-effekt aus und die Wirkung auf den Fluss unterschied sich nur wenig von der des NaCl (vergl. Abbildung 17). Das Ausmaß der maximalen Hemmung war im Durchschnitt etwas geringer als das der permanenten (Tabelle 9).

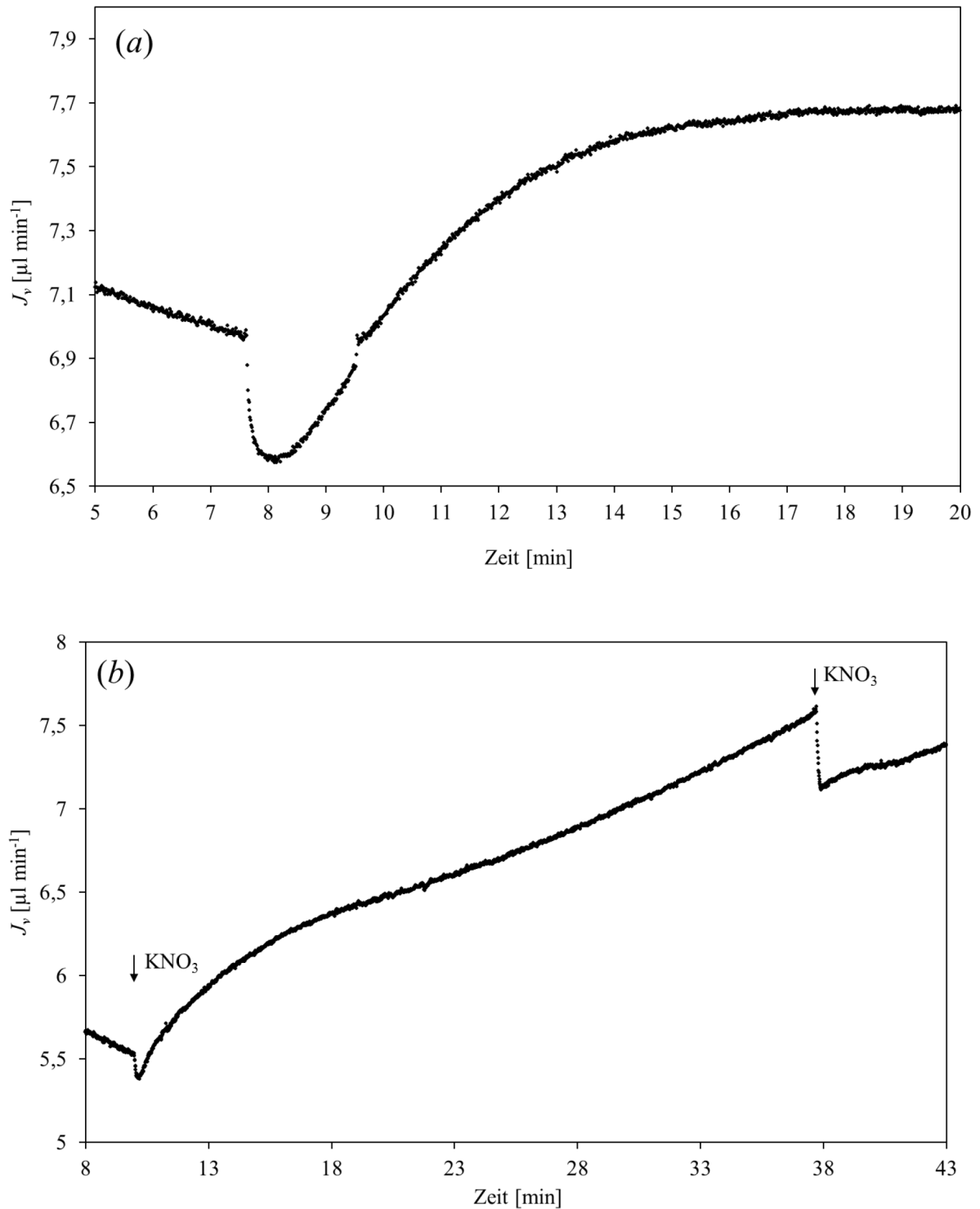


Abbildung 18: Stimulation des Xylemsaftflusses nach Erstzugabe von KNO_3 zu einem nitratfreien Medium.

(a) Osmotische Hemmung und anschließende Stimulation durch KNO_3 ($\Delta C = 1,5 \text{ mM}$) im Zeitverlauf.
 (b) Flussänderung bei Erst- und Zweitzugabe von KNO_3 ($\Delta C = 1,5 \text{ mM}$). Die auf nitrathaltigem Hoagland-Medium gehaltenen Wurzeln wurden zur Entfernung des Nitrats vor dem Experiment mit Calciumchlorid-Lösung (3 mM) gewaschen und in dieses Medium überführt.

Die starke Förderung des Xylemsaftflusses bei Erstzugabe des KNO_3 zum Medium der Pflanzen blieb aus, wenn sie längere Zeit (24 h oder länger) auf Medien ohne Nitrat gehalten wurden (Tabelle 9). Wurde der Volumenfluss einer nitrat-induzierten Wurzel im CaCl_2 -Medium gemessen, kam es auch dann zu der nitratabhängigen Stimulation des Xylemsaftflusses, wenn die Zugabe von KNO_3 im Anschluss an die Zugabe von KCl ($\Delta C = 1,5 \text{ mM}$) vorgenommen wurde (Ergebnisse hier nicht dargestellt).

Tabelle 9: Stimulierende Wirkung von Nitrationen auf die Exsudation von Xylemsaft - Spezifität, Induzierbarkeit durch Nitrat und Substratsättigung.

	Anzucht mit Nitrat		Anzucht ohne Nitrat
	1. Zugabe	2. Zugabe	
1,5 mM KNO_3 initiale Hemmung ^a Zunahme nach 10 min ^b	81 ± 37 268 ± 51 (n = 4)	91 ± 10 52 ± 32 (n = 6)	109 ± 15 15 ± 13 (n = 5)
1 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ initiale Hemmung ^a Zunahme nach 10 min ^b	39 243 (n = 2)		38 0
1,5 mM KCl initiale Hemmung ^a Zunahme nach 10 min ^b	108 ± 24 44 ± 52 (n = 5)		108 ± 21 16 ± 11 (n = 3)
1,5 mM KHCO_3 initiale Hemmung ^a Zunahme nach 10 min ^b	97 49		69 0

^a % der an der gleichen Wurzel bestimmten initialen Hemmung durch Mannitol in isotonischer Konzentration. ^b % der initialen Hemmung. Alle Osmolyte wurden in isotonischen Konzentrationen zum Medium hinzugefügt ($\Delta\pi_0 = 72 \text{ mbar}$).

2.2.1.10 Permeation von Ionen und Nichtelektrolyten aus dem Medium in den Xylemsaft

Bei Maiswurzeln war der rein osmotisch bedingte Volumenfluss des Xylemsaftes ausreichend, um das Xylemsaftvolumen in relativ kurzer Zeit (20 bis 40 min) komplett auszutauschen. Kurze Zeit nach dem Umsetzen der natriumfrei angezogenen Pflanzen auf ein Medium mit 15 mM NaCl kam es zu einem Anstieg der Na^+ -Konzentration im Exsudat (Abbildung 19). Innerhalb einer Stunde erreichte die Konzentration an Na^+ im Xylemsaft ein Plateau mit einer Konzentration, die etwa einem Drittel der Konzentration des Mediums entsprach. Beim darauf folgenden Umsetzen der Wurzel in ein isomolares LiCl-Medium erreichte Li^+ in vergleichbarer Zeit eine ähnliche Konzentration, wobei Na^+ durch Li^+ fast komplett ersetzt wurde. Zwei Stunden nach dem Umsetzen in ein Na^+ - und Li^+ -freies Medium waren beide Alkali-Ionen fast vollständig aus dem Xylemsaft verschwunden.

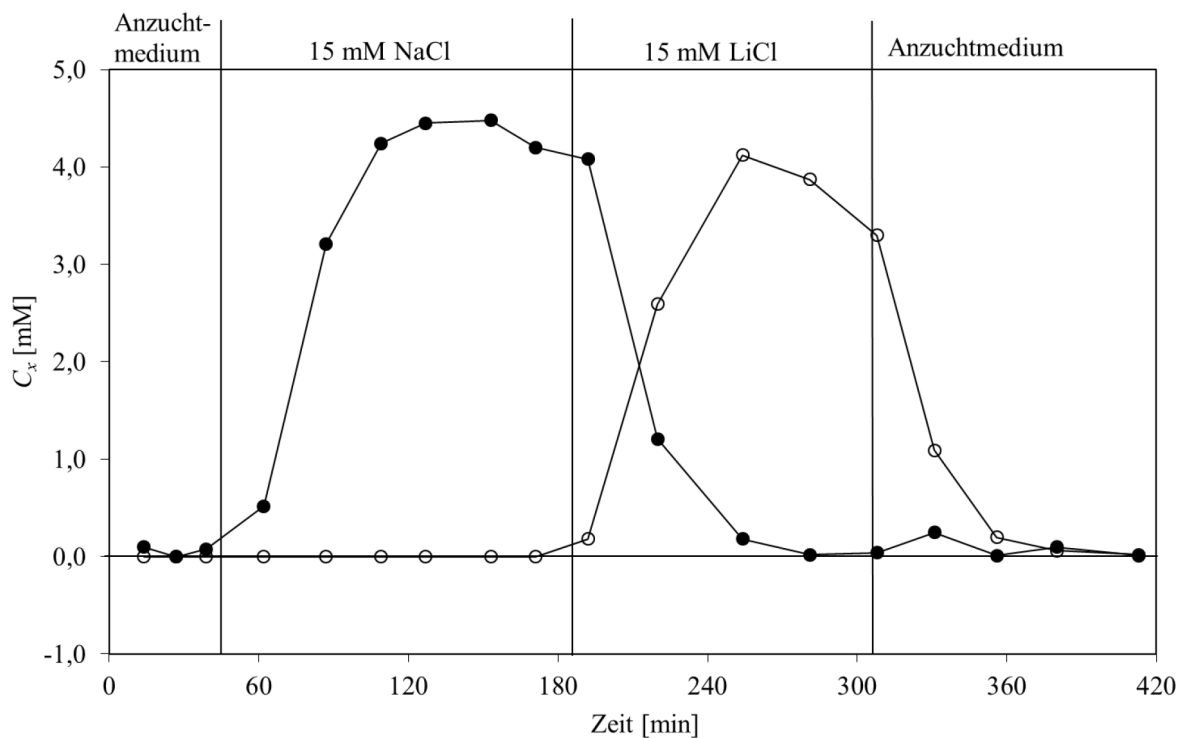


Abbildung 19: Abhängigkeit der Konzentrationen von Li^+ und Na^+ im abgegebenen Xylemsaft von ihrer Präsenz im Wurzelmedium.

Konzentration von Na^+ (Punkte) und Li^+ (Kreise). Alle Medien enthielten 1 mM KCl und 5 mM Glucose. Vertikale Linien: Mediumwechsel.

Die Konzentration von Li^+ im Presssaft der Wurzel nach der Inkubation betrug ca. 0,3 mM. Die Konzentration an Cl^- im Exsudat war während der Austauschphase immer deutlich höher (ca. 6 - 8 mM) als die Summe der Konzentrationen von Na^+ und Li^+ , was sich mit

dem Vorhandensein von KCl im Medium und der hohen Konzentration von K^+ im Exsudat (nicht dargestellt) erklären lässt.

Wurde ein Wurzelsystem in ein Medium überführt, welches Li^+ und Rb^+ in gleicher Konzentration (10 mM) enthielt, waren beiden Ionen nach kurzer Zeit im Xylemsaft nachweisbar (Abbildung 20). Während die Lithiumionen nach 100 min ein Konzentrationsverhältnis χ zwischen Xylemsaft und Medium von ca. 0,4 erreichten, wurde Rb^+ im Xylemsaft gegenüber dem Medium angereichert ($\chi \approx 1,3$). Nach dem Überführen in ein Li^+ - und Rb^+ -freies Medium verschwand Li^+ sehr schnell aus dem Exsudat, während Rb^+ noch für mehrere Stunden mit relativ hohen Konzentrationen im Xylemsaft nachweisbar war.

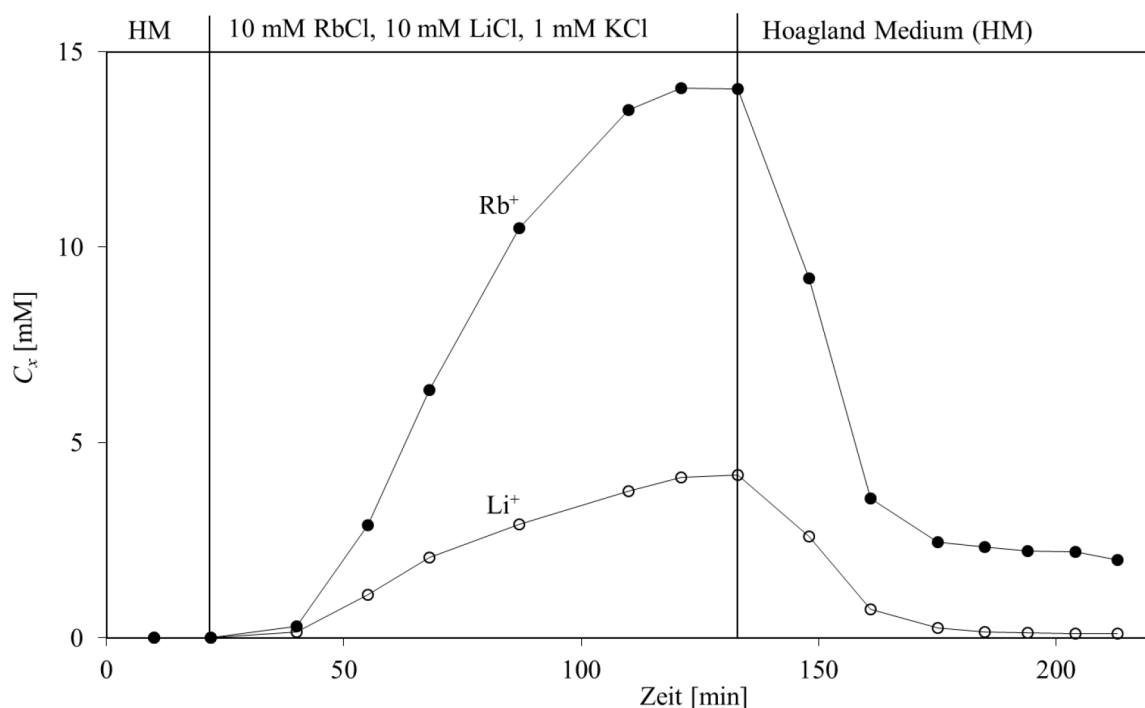


Abbildung 20: Abhängigkeit der Konzentrationen von Li^+ und Rb^+ im abgegebenen Xylemsaft von ihrer Präsenz im Wurzelmedium.

Rb^+ (Punkte) und Li^+ (Kreise) waren als Chloridsalze in einer Konzentration von 10 mM und KCl in einer Konzentration von 1 mM im Medium enthalten. Vertikale Linie: Medienwechsel.

Mannitol und Ribitol waren 10 - 20 min nach ihrer Zugabe zum Medium im Exsudat der Maiswurzelsysteme nachweisbar. Nach ca. 60 min erreichte das Verhältnis χ zwischen der Exsudat- und Mediumkonzentration einen Wert von 0,04 - 0,07 für Mannitol und 0,08 - 0,10 für Ribitol. Bei geringeren Konzentrationen von Mannitol (6,9 mM) und Ribitol (8,2 mM) wurden ähnliche Verteilungskoeffizienten χ wie bei höheren Konzentration (15 mM) erreicht wurden (vergl. Abbildung 21a und b).

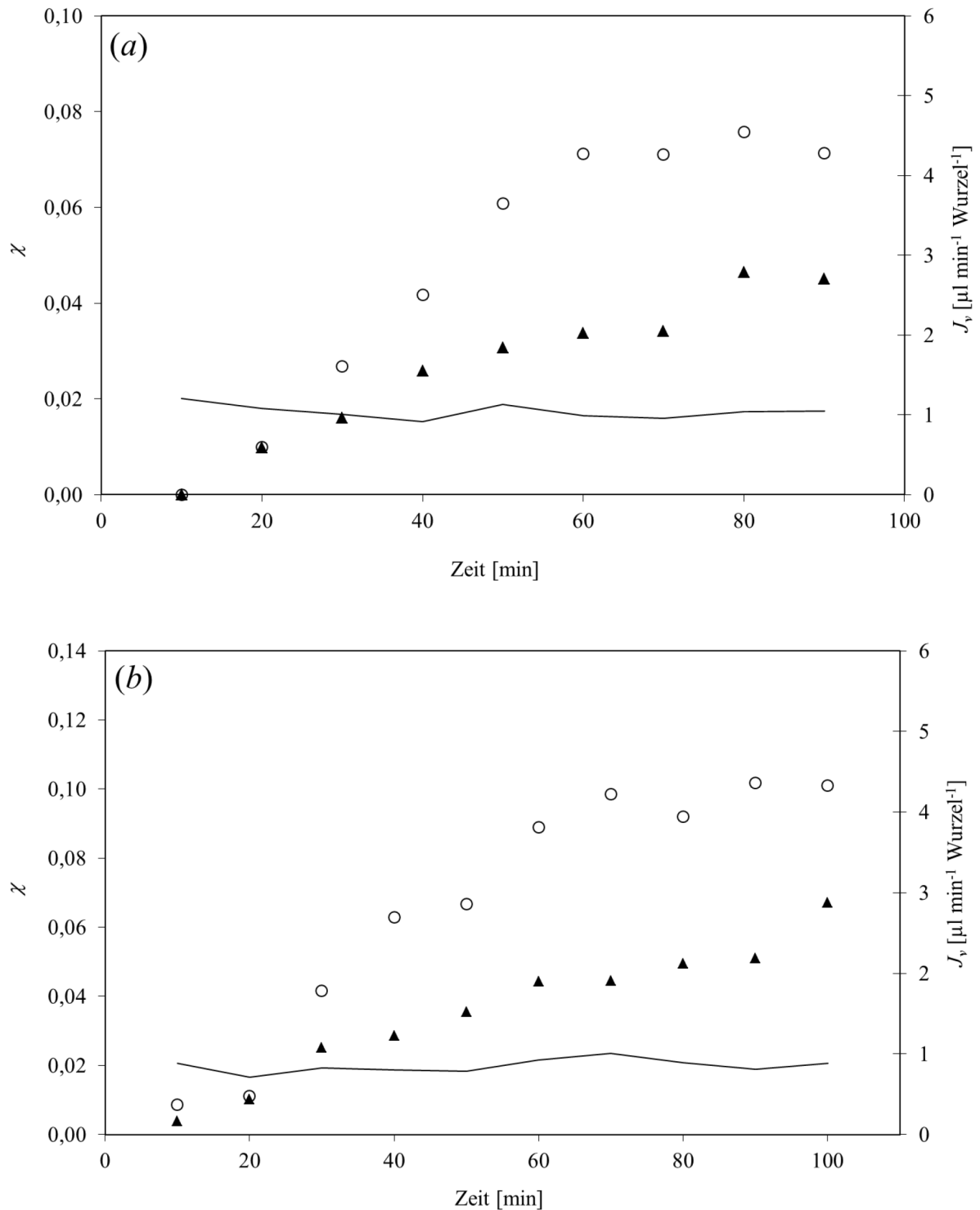


Abbildung 21: Ribitol und Mannitol im Xylemsaft exsudierender Wurzeln.

Dem Hoagland-Medium wurden zum Zeitpunkt 0 Mannitol und Ribitol hinzugefügt. Dargestellt ist das Verhältnis χ zwischen der Konzentration der Alditole im Xylemsaft und derjenigen des Mediums. Kreise: Ribitol, Dreiecke: Mannitol. Die Konzentrationen wurden im vereinigten Exsudat von je 10 Wurzeln gaschromatographisch bestimmt. (a) Mannitolkonzentration im Medium 1 g l^{-1} (6,9 mM), Ribitolkonzentration 1 g l^{-1} (8,2 mM), (b) Mannitol- und Ribitolkonzentration im Medium je 15 mM.

Wie aus Tabelle 10 (Abschnitt 2.2.1.11) hervorgeht, lag die Aufnahmerate für Mannitol in den Symplasten der Wurzel unter $0,1 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ Frischmasse. Nach ca. 1 h war demnach die Konzentration von Mannitol im Xylemsaft eine Größenordnung höher als im Presssaft der Wurzeln. Die Mannitolkonzentration im Exsudat dekapitierter Pflanzen, welche für 24 h in einem mannitolhaltigem Substrat inkubiert waren, entsprach der nach 2 h gemessenen (nicht gezeigt). Wenn die Wurzelsysteme auf ein mannitolfreies Medium umgesetzt wurden, verringerte sich die Konzentration von Mannitol im Exsudat innerhalb von 3 h auf sehr niedrige Werte (Abbildung 22).

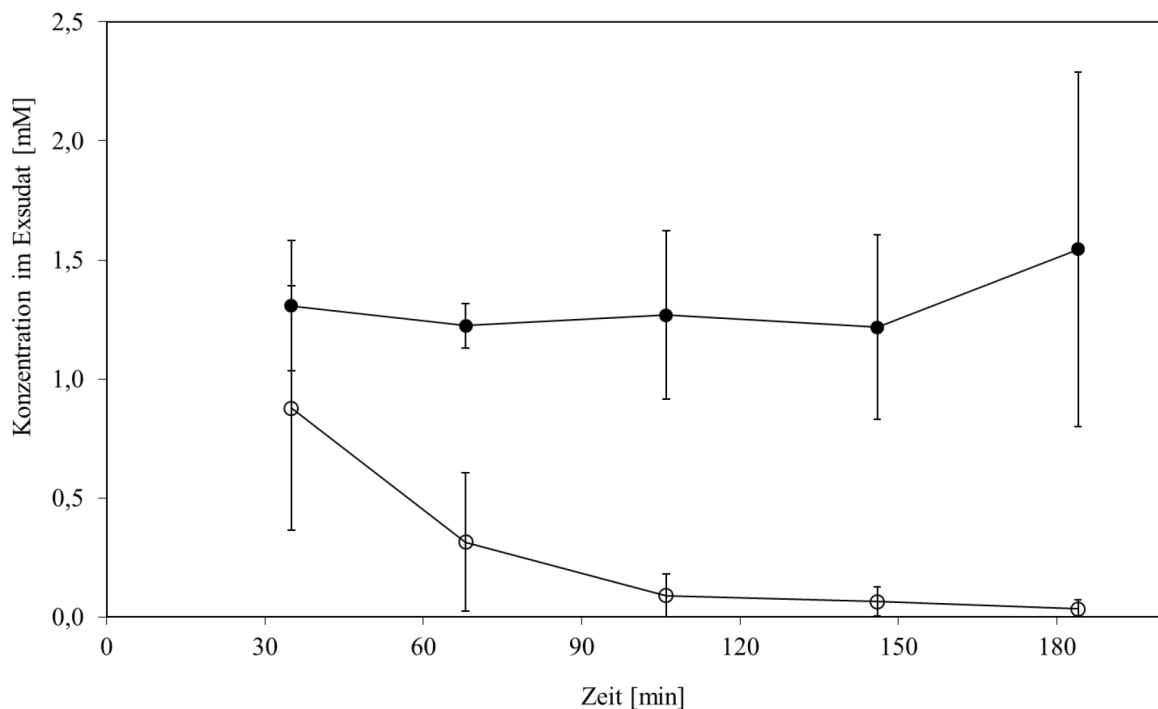


Abbildung 22: Abfall der Mannitolkonzentration im Xylemsaft nach Überführung der exsudierenden Wurzeln in mannitolfreies Medium.

Alle Pflanzen befanden sich 24 h lang vor dem Experiment auf mannitolhaltigem Medium (50 mM). Zum Zeitpunkt 0 wurden 7 Wurzelsysteme auf ein mannitolfreies Medium umgesetzt (Kreise). Die Kontrollgruppe (6 Wurzeln) wurde auf frisches mannitolhaltiges Medium (50 mM) umgesetzt (Punkte). Die mittlere Exsudationsgeschwindigkeit betrug bei diesen Wurzeln $0,6 \mu\text{l min}^{-1} \text{Wurzel}^{-1}$, auf dem mannitolfreien Medium betrug sie $0,9 \mu\text{l min}^{-1} \text{Wurzel}^{-1}$. Mittelwerte mit Standardabweichung. 100 bis 180 min nach dem Medienwechsel wurden auf dem mannitolfreien Medium 3,9 nmol Mannitol pro Wurzel und auf dem mannitolhaltigen Medium 44,9 nmol Mannitol pro Wurzel abgegeben.

PEG 600, welches dem Medium in einer Konzentration von 10 g l^{-1} (16,7 mM) zugesetzt war, konnte bei rein osmotisch getriebener Exsudation im Xylemsaft mit einer empfindlichen kolorimetrischen Methode erfasst werden. Der Xylemsaft enthielt stets weniger als 0,2 mM dieses Nichteletrolyten. Polyethylenglycol höheren Molekulargewichts konnte im

Exsudat, nicht nachgewiesen werden, obwohl die Bestimmungsmethode die Erfassung einer Konzentration von 20 μM ermöglichte.

2.2.1.11 Transport von Mannitol aus dem Wurzelmedium in den transpirierenden Spross

Wurde Mannitol zum Hoagland-Medium intakter Maispflanzen gegeben, wurde der größte Teil des während einer 24-stündigen Inkubation von den Pflanzen aufgenommenen Mannitols gaschromatographisch im Press-Saft des Sprosses nachgewiesen. Die in den Spross transferierte Menge des Mannitols war der Mediumkonzentration des Alditols annähernd proportional (Tabelle 10).

Tabelle 10: Verteilung von Mannitol zwischen Spross und Wurzel von Maispflanzen nach 24-stündiger Exposition gegenüber Mannitol.

Untersuchtes Organ / Mediumkonzentration	Frischmasse [g]	Mannitolkonzentration im Presssaft [mM]	Menge an Mannitol [μmol]
Spross ^a 50 mM	2,9 \pm 0,9	1,18 \pm 0,39	2,89 \pm 0,92
Wurzel ^a 50 mM	0,7 \pm 0,2	1,71 \pm 0,47	1,02 \pm 0,46
Spross ^b 30 mM	2,4 \pm 0,2	0,80 \pm 0,40 ^c	1,24 \pm 0,56 ^c
60 mM	2,6 \pm 0,8	1,55 \pm 0,20 ^c	2,73 \pm 1,23 ^c

Mittelwerte von (15)^a bzw. (12)^b Pflanzen \pm Standardabweichung. ^c Werte sind mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von unter 0,05 signifikant verschieden (T-Test).

Um einen stoffwechselbedingten Abbau des Mannitols im Spross auszuschließen, wurden Blätter von 10 Pflanzen nach deren Anzucht auf mannitolhaltigem Medium untersucht. Nach der Ernte wurden die Blätter entlang der Mittelrippe geteilt. Von jedem Blatt wurde eine Hälfte sofort eingefroren, die andere vor dem Einfrieren 24 h lang im Schwachlicht in einer feuchten Kammer inkubiert. Die Konzentration des Mannitols im Presssaft der sofort eingefrorenen Blatthälften betrug $0,31 \pm 0,11$ mM, diejenige im Presssaft der in der feuchten Kammer inkubierten Parallelprobe betrug $0,31 \pm 0,08$ mM. Das Konfidenzintervall aller Werte für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % betrug 0,04 mM.

In Abbildung 23 sind die Ergebnisse eines Experimentes mit Maispflanzen gleichen Alters und ähnlicher Größe dargestellt, deren Transpirationsgeschwindigkeit, wie in

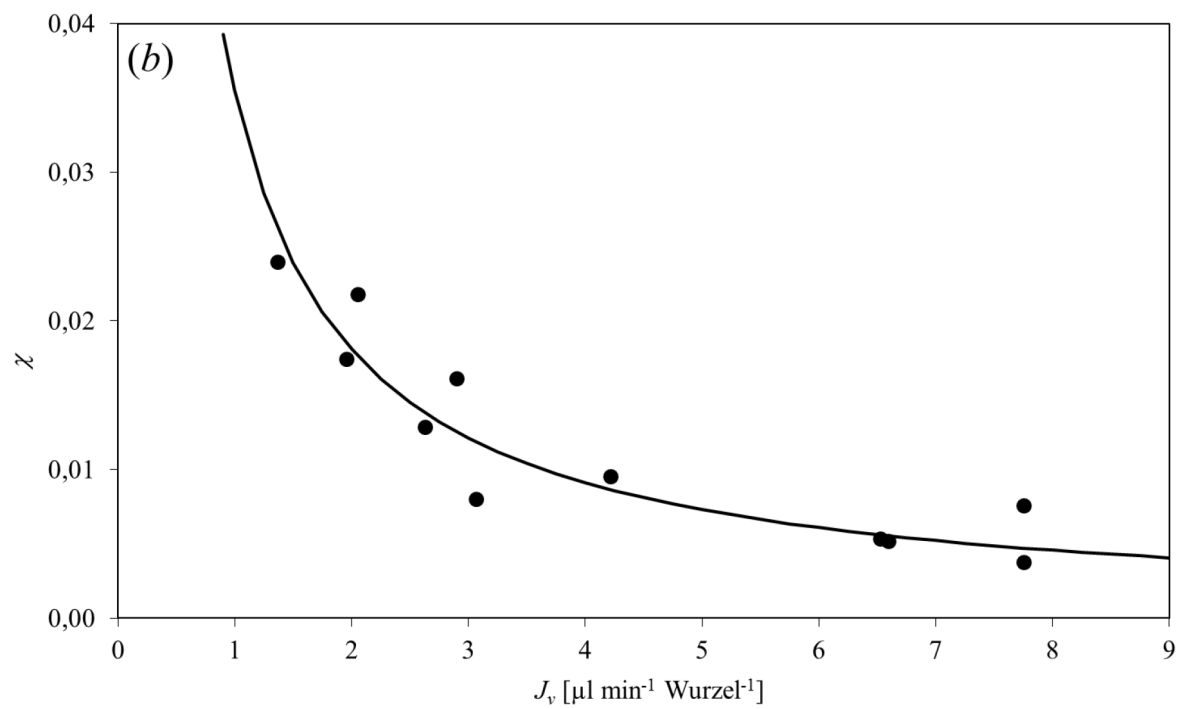
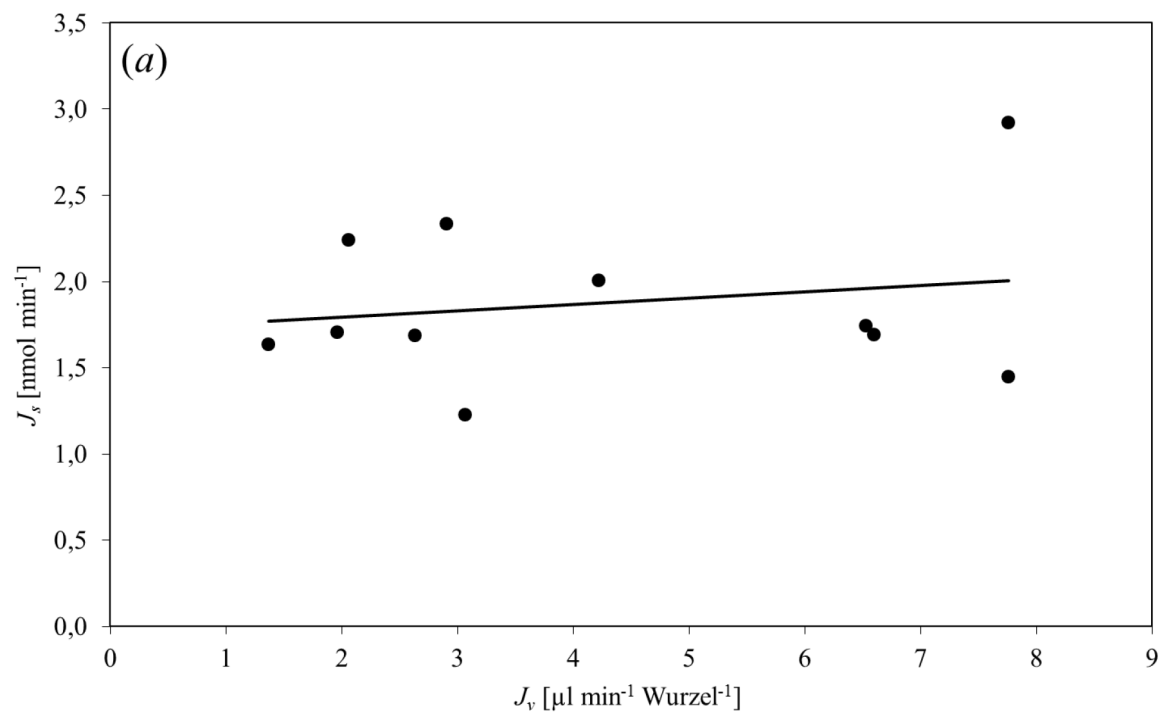
Abschnitt 2.1.17 erläutert, variiert wurde. Die aus dem Mannitolgehalt des Sprosses berechnete Rate der Mannitoltranslokation in den Spross (J_s) zeigte über einen weiten Bereich keine Abhängigkeit vom aus der Transpirationsgeschwindigkeit berechneten Volumenfluss (Abbildung 23a). In Abbildung 23b ist dargestellt, wie der Verteilungskoeffizient (χ) des Mannitols zwischen dem Xylemsaft und dem Medium vom Volumenfluss abhängt. Der Kehrwert von χ stieg annähernd linear mit J_v an (Abbildung 23c).

Das Experiment wurde sechsmal wiederholt (Tabelle 11). Bei Volumenflüssen über $5 \mu\text{l min}^{-1}$ pro Wurzel fiel die Konzentration von Mannitol im Xylemsaft stets deutlich unter 1 % der Konzentration des Mediums. Bei den niedrigsten transpirationsbedingten Flüssen erreichte χ mit 0,03 bis 0,04 Werte, welche etwas geringer waren als diejenigen, die an abgetrennten Wurzelsystemen durch Messung der Mannitolkonzentration im Xylemsaft direkt bestimmt wurden (vergl. Abbildung 23b und Tabelle 11 mit Abbildung 21). Bei den höchsten Werten von J_v lag χ deutlich unter 0,01.

Tabelle 11: Mittlerer Verteilungskoeffizient von Mannitol zwischen dem Xylemsaft und dem Medium χ bei unterschiedlichen Transpirationsraten.

Mittlere Transpirationsrate bezogen auf das Wurzelgewicht [$\mu\text{l min}^{-1} \text{g}^{-1}$]	Anzahl der untersuchten Pflanzen	Mittlerer Verteilungskoeffizient $\chi = \frac{C_x}{C_0}$
0,8 - 2	20	$0,036 \pm 0,0067$
2 - 3	12	$0,019 \pm 0,0058$
3 - 5	10	$0,013 \pm 0,0036$
5 - 10	35	$0,008 \pm 0,0009$
> 10	9	$0,006 \pm 0,0027$

Mittelwerte \pm Konfidenzintervall für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,05. Die Maispflanzen waren dem mannitolhaltigen Medium (50 - 60 mM) für 24 h ausgesetzt. Die mittlere Frischmasse der Wurzeln betrug 0,77 g.



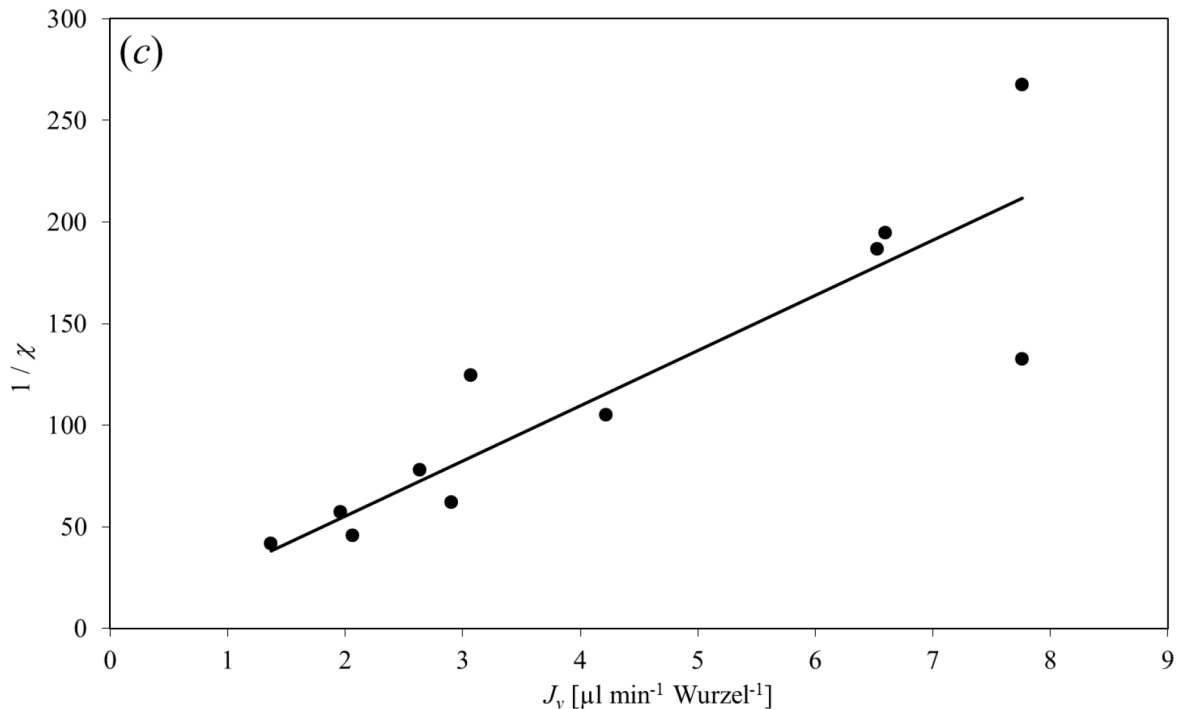


Abbildung 23: Abhängigkeit des Mannitolfusses J_s in den Spross und des berechneten Mannitol-Verteilungskoeffizienten χ zwischen dem Xylemsaft und dem Medium vom Volumenfluss J_v .

Intakte Pflanzen vergleichbarer Größe transpirierten für 24 h einem Mineralmedium mit 50 mM Mannitol bei unterschiedlicher Luftfeuchtigkeit. J_v wurde aus dem Gewichtsverlust und J_s aus der Mannitol-Translokation in den Spross berechnet. (a) J_s als Funktion von J_v (b) Konzentrationsverhältnis χ zwischen Xylemsaft und Medium als Funktion von J_v ; die Linie entspricht der durch Gleichung 23 im Abschnitt 3.9 dargestellten Funktion. (c) Lineare Abhängigkeit zwischen $1/\chi$ und J_v .

2.2.1.12 Konzentrationsänderungen der Elektrolyte im Xylemsaftes der Hauptwurzel

Um die Elektrolytflüsse zwischen dem aufsteigenden Xylemsaft in der Stele und dem Symplasten der Hauptwurzel erfassen zu können, wurden die Seitenwurzeln an ihrer Basis abgetrennt und das Hoagland-Medium gegen ein Medium mit hoher Salzkonzentration (50 mM NaCl) ausgetauscht. Der Xylemsaftfluss wurde hydrostatisch angetrieben und mit der Leitfähigkeitsmesszelle und dem Fluss-Sensor untersucht. Der Volumenfluss wurde so eingestellt, dass er in etwa demjenigen des exsudierenden Wurzelsystems entsprach. Die elektrische Leitfähigkeit des Perfundates blieb gegenüber der des Umgebungsmediums auch nach 5-maliger Verdrängung des gesamten Xylemvolumens leicht erniedrigt (nicht gezeigt). Wurde die entwurzelte Hauptachse eines vergleichbaren Wurzelsystems in eine CaCl_2 -Lösung (0,5 mM) umgesetzt, so blieb die elektrische Leitfähigkeit des abgegebenen Xylem-

saftes (Perfundat) auch nach zehnmalem Durchspülen des Gefäßvolumens deutlich über derjenigen des Umgebungsmediums (nicht gezeigt).

Wurde der Xylemsaftfluss durch ein intaktes Wurzelsystem hinter dem Fluss-Sensor zeitweilig verhindert (vergl. Abbildung 3a) und anschließend freigegeben, erreichte der Volumenfluss nach einer kurzfristigen sehr starken Erhöhung innerhalb von wenigen Minuten ein neues *steady state* (Abbildung 24), wobei eine zweiphasige Kinetik ähnlich derjenigen nach einer hydrostatischen Druckanwendung auftrat (wegen des Zeitmaßstabes in Abbildung 24 nicht erkennbar).

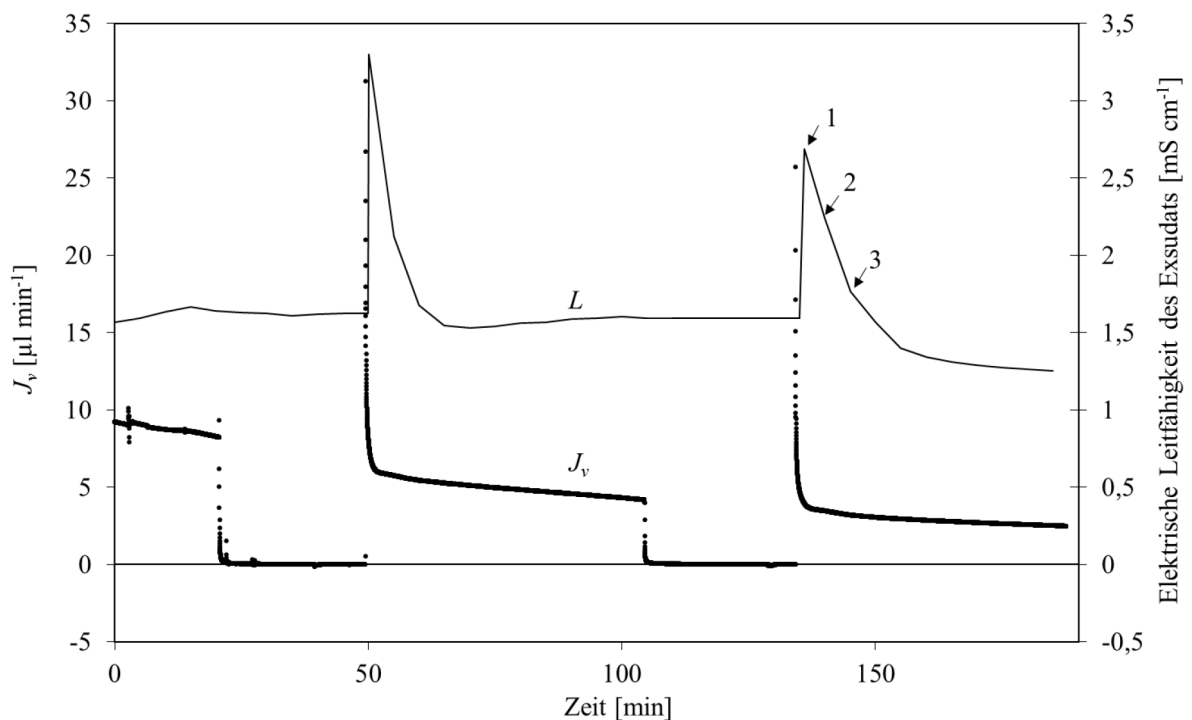


Abbildung 24: Veränderung der elektrischen Leitfähigkeit und des Xylemsaftes nach Unterbrechung des Xylemsaft-Volumenflusses.

Der Volumenfluss J_v wurde durch Verschluss der Abflussleitung hinter dem Fluss-Sensor gestoppt (vergl. Abbildung 3a). Die elektrische Leitfähigkeit L des Xylemsaftes (durchgezogene Linie) wurde vor dem Fluss-Sensor gemessen. Durch Pfeile werden die Zeitpunkte nach der Öffnung der Abflussleitung angezeigt, nach denen der ausgetretene Xylemsaft definierte Volumina erreichte (1 = 10 μl , 2 = 30 μl , 3 = 60 μl). Die Leitfähigkeit des Mediums betrug 1,01 mS cm^{-1} .

Die biphasische Kinetik der Flussänderung beim Übergang vom Maximalfluss zum neuen stationären Gleichgewicht hatte die Geschwindigkeitskonstanten ($\alpha_1 = 0,29 \text{ s}^{-1}$, $\alpha_2 = 0,02 \text{ s}^{-1}$, $n = 4$). Sie entsprechen den in Tabelle 6 für die hydrostatisch bedingte Flussänderung gefundenen Werten und beruhen auf dem Wegfallen des Wurzeldruckes. Die temporäre Änderung der Exsudationsgeschwindigkeit nach dem Öffnen der Abflussleitung war umso größer, je länger der Abfluss unterbrochen war und je höher die stationäre Exsudations-

geschwindigkeit vor der Unterbrechung war. Die elektrische Leitfähigkeit des Exsudates zeigte nach der Öffnung des Strömungsweges bei einem solchen Experiment einen starken Anstieg, wobei in wenigen Sekunden ein Maximum erreicht wurde. In wiederholten Versuchen ($n = 5$, nicht gezeigt) wurden vergleichbare Resultate gefunden. Zum Zeitpunkt des Leitfähigkeitsmaximums war ungefähr ein Viertel des Xylemvolumens ausgeströmt, wenn davon ausgegangen wird, dass der Volumenanteil der Xylemgefäße ca. 4 % der Frischmasse der Wurzel entspricht (Miller, 1981). Dies entspricht annähernd dem Volumen der Gefäße der Hauptwurzel. Nachdem das Volumen der Xylemgefäße ca. 2 bis 3-mal durchspült war, wurde eine annähernde Konstanz der Elektrolytkonzentration im Xylemsaft erreicht. Das Volumen der Xylemgefäße der feinen Seitenwurzeln wurde in dieser Periode, auf Grund des geringen Volumenanteils, häufiger ersetzt.

2.2.1.13 *Solvent drag* großer Polymermoleküle durch die Tüpfelmembranen zwischen den Xylemgefäßen des verzweigten Wurzelsystems

Wurden polydisperse Dextranlösungen unterschiedlicher Molekülgröße mit Hilfe von Überdruck durch das Gefäßsystem von Maiswurzeln mit dekapitierten Seitenwurzeln bewegt, wurde die Dextrankonzentration im ausströmenden Xylemsaft gegenüber derjenigen des Mediums reduziert, wenn die nominelle mittlere molare Masse der verwendeten polydispersen Dextrane über 500 kDa lag (Tabelle 12). Aus dem für Dextrane von Granath (1958) und Carpita et al. (1979) bestimmten mittleren Stokes'schen Durchmesser und der durch die Polydispersität der verwendeten Dextrane bedingten breiten Streuung der realen Stokes'schen Durchmesser ergibt sich eine Mindestgröße für die obere Größenausschlussgrenze durch die Tüpfelmembranen von 40 bis 50 nm.

Tabelle 12: Strömung von Dextranmolekülen unterschiedlicher Größe durch das Wurzelsystem von Maispflanzen.

Molekulargewicht des Dextrans [g mol^{-1}]	Nomineller mittlerer Stokes'scher Durchmesser [nm]	Konzentrationsverhältnis von Dextran und α -Methylglucosid im Xylemsaft
250'000	24	1
500'000	30 ^a	0,79
2'000'000	48 ^b	0,39
5'000'000	70 - 80 ^b	0

^a basierend auf Daten von Granath (1958), ^b basierend auf Daten von Carpita et al. (1979)

2.2.1.14 Elastische Volumenkapazität der Maiswurzelgewebe

Um die Volumenänderung des lebenden Gewebes nach einer starken Absenkung des osmotischen Potenzials des Mediums mit dem Radialfluss vergleichen zu können, wurden gleichzeitig die Volumenflüsse an der Epidermis und an den Xylemgefäßen der Maiswurzeln erfasst (vergl. Abschnitt 2.1.25). Während der Xylemsaftabgabe im Fließgleichgewicht waren beide Flüsse gleich groß. Nach einer starken Erhöhung des osmotischen Druckes des Wurzelmediums kam es über die Wurzeloberfläche zur Wasserabgabe an das Medium und zur Umkehrung der Xylemsaftflussrichtung. Nach einer Periode von 10 bis 20 min war die osmotisch bedingte Wasserabgabe an das Medium beendet und der Xylemsaft begann wieder in basaler Richtung zu strömen. Die polarimetrische Methode ermöglichte es, das Volumen welches während der Zeit von der Zugabe des Osmolyten bis zur Wiederherstellung der ursprünglichen Flussrichtung an das Medium abgegeben wurde, mit dem Volumen zu vergleichen, das in der gleichen Zeit durch Einsaugen von Xylemsaft in die Wurzel aufgenommen wurde. Letzteres wurde durch Integration der Daten des Fluss-Sensors ermittelt. Da bei der Absenkung des äußeren Wasserpotenzials der mittlere Turgor im Symplasten der Wurzel sinkt, ist zu erwarten, dass das Volumen der Wurzel abnimmt, und dass daher mehr Wasser von der Wurzel an das Medium abgegeben wird, als über das Xylem in die Wurzel zurückströmt. Tatsächlich wurde in allen Fällen gefunden, dass die Wasserabgabe an das Medium größer war als das durch die Schlauchleitung in die Gefäße zurückgeflossene Volumen. Letzteres erreichte im Mittel nur etwa 80 % des ins Medium abgegebenen Volumens. Bei den fünf untersuchten Wurzelsystemen verminderte sich das Wurzelvolumen nach Erhöhung des osmotischen Druckes des Mediums um 2,39 bar um ca. 0,5 %. Hieraus wurde eine mittlere elastische Volumenkapazität des Wurzelgewebes von $0,21 \text{ \% bar}^{-1}$ bzw. ein Volumenelastizitätsmodul von ca. 620 bar berechnet (Tabelle 13).

Tabelle 13: Messwerte zur Ermittlung der Elastischen Volumenkapazität und des Volumenelastizitätsmodulus der Maiswurzeln.

Integral des Wasserflusses aus dem Ableitungsschlauch in das Xylem [μl]	$15,1 \pm 4,7$
Wasserabgabe an das Medium während der osmotisch induzierten Umkehr des Xylemsaftflusses, bestimmt aus der Konzentrationsänderung des Dextrans im Medium [μl]	$19,7 \pm 4,8$
Differenz zwischen Wasserabgabe in das Medium und Wasseraufnahme in das Xylem [μl]	$4,6 \pm 2,6$
Wurzelgewicht [g]	$0,98 \pm 0,15$
Relativer Volumenänderung des Wurzelgewebes während der Fluss-Umkehr [%]	$0,49 \pm 0,32$
Elastische Volumenkapazität der Wurzel [% bar^{-1}]	$0,20 \pm 0,15$
Volumenelastizitätsmodulus der Wurzel [bar]	620 ± 260

Die Messwerte wurden mit Hilfe der in Abschnitt 2.2.5. erläuterten Methode ermittelt. Der osmotische Druck der Dextranlösung wurde durch die Zugabe von NaCl um 2,39 bar erhöht. Die angegebenen Werte beziehen sich auf das Zeitintervall von 10 min nach der Zugabe des Osmolyten zum Medium (vergl. Abbildung 4). Alter der Pflanzen: 12 d. Mittelwerte \pm Standardabweichung ($n = 5$).

2.2.2 Ergebnisse zum radialen Volumen- und Teilchenfluss an halmbürtigen Adventivwurzeln sowie zum Wasserhaushalt des Schilfes an einem Brackwasserstandort

2.2.2.1 Struktur der halmbürtigen Adventivwurzeln

Die Seitenwurzeln sanken nach dem Abtrennen von der Adventivwurzel im Wasser ihres Standortes zum überwiegenden Teil (97 %) ab (Tabelle 14). Diese Seitenwurzeln waren bereits vor dem Abtrennen von der Hauptwurzel auf Grund der Flüssigkeitsfüllung der kortikalen Interzellularräume vollständig oder fast vollständig transparent (Abbildung 25). Zwischen den in einer Linie angeordneten Zellen des kortikalen Parenchyms bildeten die kortikalen Interzellularräume langgezogene Kanäle von der Wurzelspitze bis zur Basis. Diese Kanäle waren dreieckig oder rhombenförmig im Querschnitt und hatten einen Flächenanteil von ca. 3,5 % des Wurzelquerschnittes. Eine partielle Gasfüllung der Kanäle wurde im Durchlicht als eine, auf Grund der Lichtreflexion an den Zellwänden, dunkel erscheinende Linie mit Ausbuchtungen in die radial gerichteten Zellzwischenräume sichtbar (vergl. Abbildung 30b). Das basale Ende der Seitenwurzeln ragte nicht frei in das lysigene Aerenchym der Hauptwurzel hinein sondern war von einem Septum umschlossen (vergl. Abbildung 25d). Das gasgefüllte Aerenchym der Hauptwurzel war fluidisch von den flüssigkeitsgefüllten Interzellularräumen der Feinwurzeln, durch ein von Interzellularen freies lebendes Gewebe, getrennt.

Eine pneumatische Verbindung zwischen den luftgefüllten Interzellularräumen der Adventivwurzeln und denen der lufthaltigen Seitenwurzeln gab es nur bei rhizombürtigen Adventivwurzeln, die im anoxischen Substrat wuchsen. Die Achsen dieser Adventivwurzeln hatten einen Durchmesser von oft über 4 mm und nicht selten eine Länge von bis zu 20 cm. Ihre wenigen Seitenwurzeln hatten einen Durchmesser von weit über 200 µm und einen Kortex mit einem generell gasgefüllten, speichenförmigen Aerenchym. Die rhizombürtigen Adventivwurzeln unterschieden damit sich deutlich von den halmbürtigen Adventivwurzeln, welche einen deutlich geringeren Durchmesser hatten und wesentlich stärker verzweigt waren (Tabelle 15).

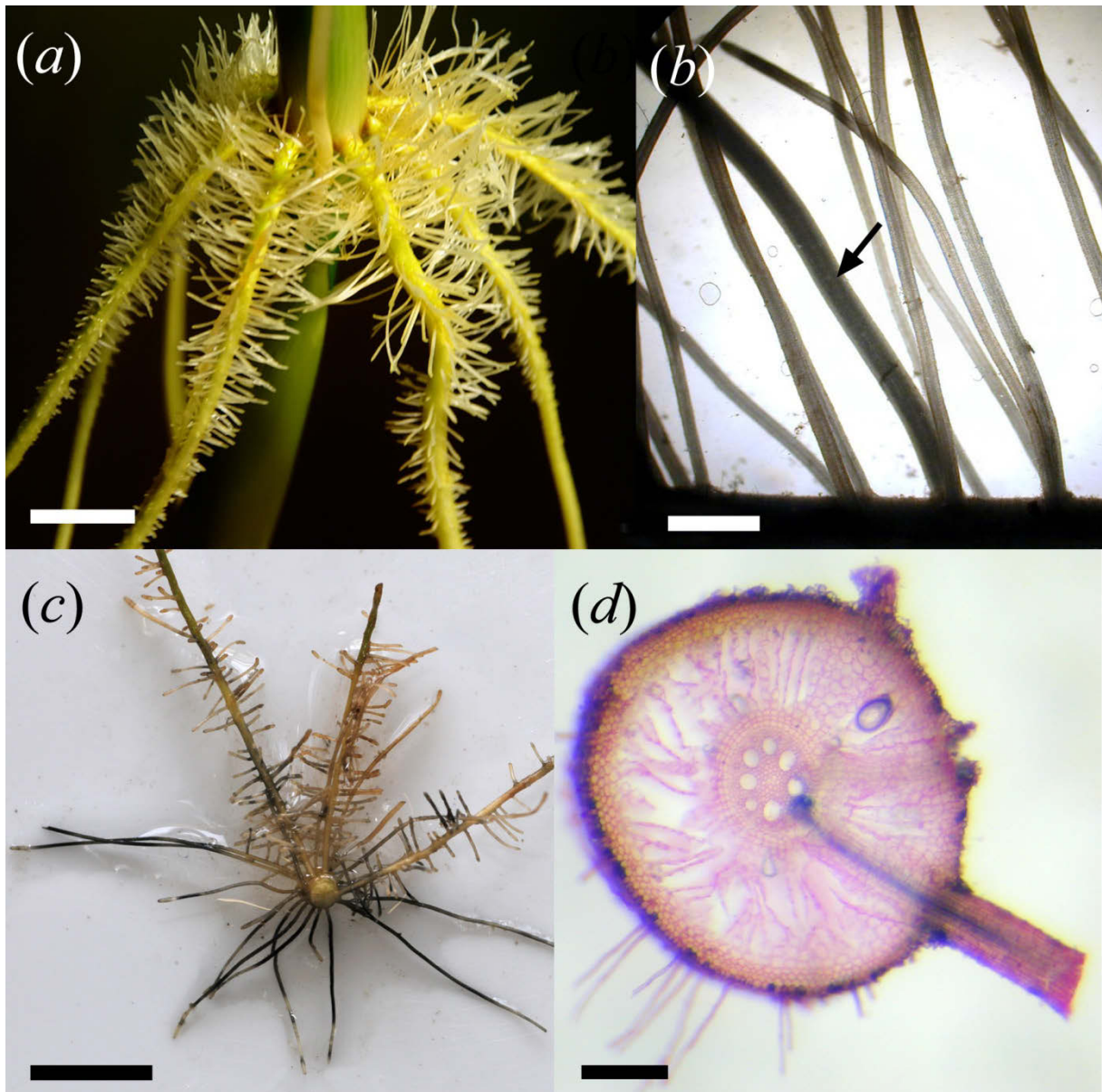


Abbildung 25: Halmbürtige Adventivwurzel des Schilfes und ihre Seitenwurzeln.

(a) Junge stark verzweigte Adventivwurzeln aus dem Freiwasser des Brackwasserstandortes Kloster. (b) Durchlichtfotografie einer Hauptwurzel mit Feinwurzeln. Die dünneren Feinwurzeln sind auf Grund der Flüssigkeitsfüllung der kortikalen Interzellularen durchscheinend und die Stele ist als dunkler Streifen sichtbar. In der maternalen Wurzel und der dickeren Seitenwurzel (Pfeil) ist die Stele auf Grund der Lichtreflexion an den gasgefüllten Interzellularen nicht sichtbar. (c) Ältere Adventivwurzel des Standortes Kloster, teilweise mit verzweigten Seitenwurzeln, welche an der Grenze zwischen oxischem Substrat (oberer Teil) und anoxischem Substrat (unten) wuchs. Die Wurzeln des anoxischen Bereiches sind schwarz gefärbt und besitzen auf der gesamten Länge keine Feinwurzeln. Die hellen Wurzeln des oxischen Substrates sind bis in die apikale Region verzweigt. Die Hauptwurzel wurde auf etwa halber Länge für die Photographie zerschnitten. (d) Handschnitt durch eine Hauptwurzel mit der Austrittsstelle einer feinen Seitenwurzel. Sie Stele der Feinwurzel und die Gefäßverbindungen mit der Hauptwurzel sind mit Evans Blau gefärbt, welches durch Anlegen eines Unterdruckes über die Stele der Adventivwurzel durch die dekapitierte Seitenwurzel eingesaugt wurde. Kontrastierung durch Färbung mit Chrysoidin und Neufuchsin. Balken (a, c) 1 cm, (b) 1 mm, (d) 200µm.

Die absinkenden Seitenwurzeln höchster Ordnung waren signifikant kürzer und dünner als die wenigen schwimmenden Seitenwurzeln (Tabelle 14) und werden im Folgenden als Feinwurzeln oder feine Seitenwurzeln bezeichnet. Sie hatten eine mittlere Länge von ca. 9 mm und einen mittleren Durchmesser von ca. 160 μm . Ein zentrales Xylemgefäß war in der Regel nicht vorhanden. Beide Wurzeltypen hatten ein vergleichbar großes Volumen der radialen Xylemgefäße. Das Volumen der kortikalen Interzellularen war bei den schwimmenden Wurzeln gegenüber den absinkenden stark vergrößert. Der größte Teil des Volumens der absinkenden Feinwurzeln (ca. 90 %) bestand aus zwei oder drei Reihen relativ großer kortikaler Parenchymzellen. Unweit der Spitze, wo die Wände der Endodermis noch keine Reaktion auf Neufuchsin und Chrysoidin zeigten, waren die radialen Wände der Epidermis/Hypodermis bereits mit Lignin oder Suberin imprägniert (Abbildung 26a). An der Basis der Feinwurzeln nahe der Hauptwurzel war das Volumen der kortikalen Interzellularräume stark verringert und die Wände der verholzten oder verkorkten kortikalen Parenchymzellen stark verdickt (Abbildung 26b). An der Feinwurzelbasis waren auch die Zellwände der Endodermis durch die U-förmige Einlagerung von Suberin/Lignin sekundär verändert.

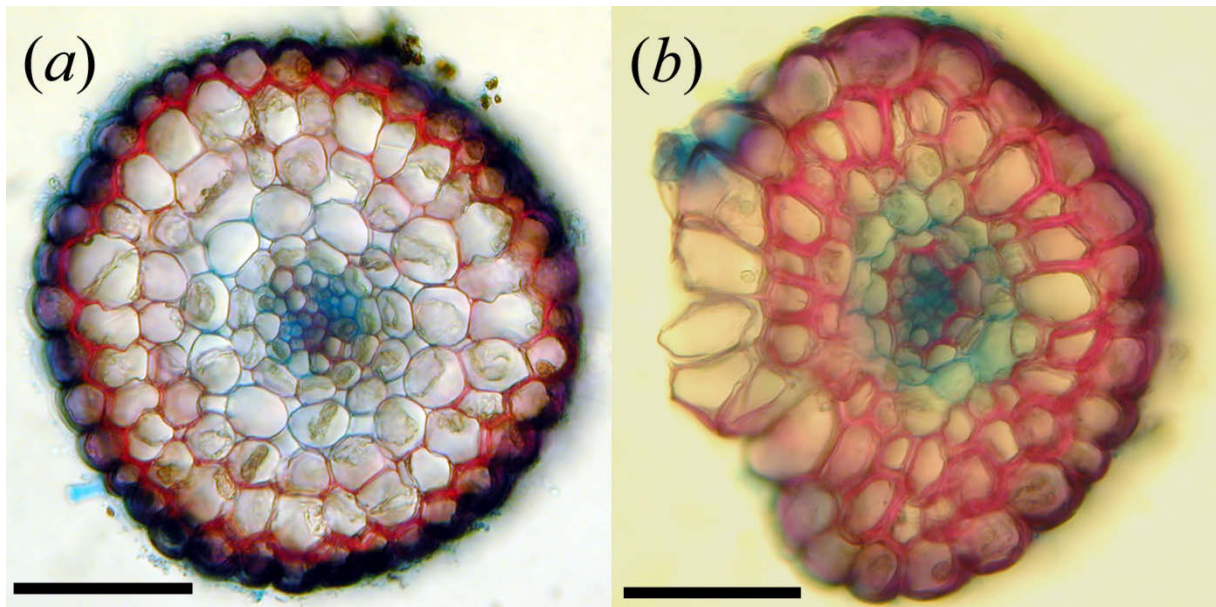


Abbildung 26: Lignin und Suberin in der apikalen und basalen Region der feinen Seitenwurzeln halbbürtiger Adventiwurzeln.

Handschnitte einer 18 mm langen feinen Seitenwurzel ca. 8 - 9 mm hinter der Spitze (a) und nahe der Hauptwurzel (b). Schnitte wurden mit ACN-Farbstoff für Lignin/Suberin (rot) und Cellulose (blau) gefärbt. Deutliche Verdickung und Lignifizierung der Endodermis und der kortikalen Zellwände, sowie Verringerung des Volumens der kortikalen Interzellularräume im basalen Wurzelabschnitt. Balken: (a, b) 50 μm .

Tabelle 14: Morphometrische Beschreibung von überwiegend flüssigkeitsgefüllten (absinkenden) und luftgefüllten Interzellularräumen (schwimmenden) Seitenwurzeln halmbürtiger Adventivwurzeln.

	Absinkende Seitenwurzeln	Schwimmende Seitenwurzeln
Länge [mm]	9,3 ± 2,6	10,7 ± 2,3
Anzahl pro Adventivwurzel	429 ± 210	12 ± 14
Durchmesser [µm]	163 ± 27	244 ± 62
Durchmesser der Stele [µm]	56 ± 10	69 ± 19
Anzahl der lateralen Xylemgefäße	2,7 ± 0,8	4,4 ± 1,7
Durchmesser der lateralen Gefäße [µm]	10,9 ± 2,5	9,3 ± 2,6
Querschnittsfläche eines lateralen Gefäßes [µm ²]	98 ± 46	73 ± 39
Querschnittsfläche aller lateralen Gefäße [µm ²]	259 ± 163	342 ± 206
Anteil der lateralen Gefäße am Wurzelquerschnitt [%]	1,24	0,73
Volumen aller lateralen Gefäße [nl]	2,3	2,7
Zentrale Xylemgefäße Durchmesser [µm]	nicht vorhanden in mehr als 99% der Wurzeln	generell vorhanden, 23,6 ± 6,1
Innerster Interzellularring Anzahl der Interzellularräume Querschnittsfläche eines Interzellularraums [µm ²] Querschnittsfläche aller Interzellularräume [µm ²]	8,3 ± 1,9 12,7 ± 7,5 115 ± 79	10,5 ± 3,6 13,8 ± 8,6 150 ± 81
Zweiter Interzellularring Anzahl der Interzellularräume Querschnittsfläche eines Interzellularraums [µm ²] Querschnittsfläche aller Interzellularräume [µm ²]	10,5 ± 1,7 25,0 ± 9,5 265 ± 59	14,0 ± 1,8 51,8 ± 24,5 734 ± 317
Dritter Interzellularring Anzahl der Interzellularräume Querschnittsfläche eines Interzellularraums [µm ²] Querschnittsfläche aller Interzellularräume [µm ²]	9,5 ± 1,2 35,9 ± 14,4 342 ± 126	13,3 ± 2,7 90,4 ± 40,0 1246 ± 543
Vierter Interzellularring Anzahl der Interzellularräume Querschnittsfläche eines Interzellularraums [µm ²] Querschnittsfläche aller Interzellularräume [µm ²]	nicht vorhanden	12,7 ± 5,6 66,5 ± 32,9 932 ± 529
Volumen aller kortikalen Interzellularräume [nl Wurzel ⁻¹]	6,5	27,6
Anteil aller kortikaler Interzellularräume an der Querschnittsfläche der Wurzel [%]	3,5	6,5

Parameter wurden an je 25 oder mehr zufällig gewählten absinkenden Feinwurzeln und allen vorhanden schwimmenden Seitenwurzeln von 20 halmbürtigen Adventivwurzeln aus der Hydrokultur (mit zusätzlichem NaCl, Partialdruck des NaCl: 3,8 bar) bestimmt. Das äußere Erscheinungsbild der untersuchten Wurzeln entsprach den in Abbildung 25a dargestellten Adventivwurzeln. Die untersuchten Seitenwurzeln waren nicht verzweigt.

Tabelle 15: Morphometrische Charakterisierung der halmbürtigen Adventivwurzeln des Schilfes.

Länge der Adventivwurzel [mm]	103 ± 19
Länge des verzweigten Bereiches [mm]	64 ± 22
Durchmesser der Hauptwurzel [mm] an der Wurzelbasis an der Wurzelmitte an der Wurzelspitze	1,1 ± 0,2 0,8 ± 0,2 0,5 ± 0,2
Anzahl der Seitenwurzeln	434 ± 211
Oberfläche aller Seitenwurzeln [mm ²]	2375 ± 1132
Oberfläche der Hauptwurzel [mm ²]	212

Parameter von 20 halmbürtigen Adventivwurzeln aus der Hydrokultur (mit zusätzlichem NaCl, Partialdruck des NaCl: 3,8 bar). Mittelwert ± Standardabweichung.

Wurde durch Anlegen von Unterdruck an die Stele einer halmbürtigen Adventivwurzel eine Evans Blau-Lösung über dekapitierte Feinwurzeln eingesaugt, konnte in Querschnitten eine Färbung sowohl der Xylemgefäße als auch der kortikalen Interzellularräume der Feinwurzel beobachtet werden (nicht gezeigt). Es bestand jedoch keine direkte hydraulische Verbindung zwischen den Interzellularräumen der Feinwurzeln und den Gefäßen der Hauptwurzel; der Axialfluss der Farbstofflösung war am Übergang zwischen der Feinwurzel und der Hauptwurzel auf die Stele beschränkt (vergl. Abbildung 25d). Wurde eine Tuschesuspension in dekapitierte Feinwurzeln eingesaugt, so akkumulierten sich die Partikel an der Wurzelbasis in den Xylemgefäßen und den Kortexinterzellularen. Dieser Befund zeigt, dass die 2 - 3 Xylemgefäße einer Feinwurzel trotz ihres geringen Durchmessers (ca. 11 µm) Tracheen sind (Abbildung 27). Das Einsaugen einer zum Xylemsaft hypotonischen Evans Blau-Lösung in die kortikalen Interzellularen der Feinwurzeln zeigt, dass ein hydrostatischer Unterdruck welcher an die Stele der maternalen Wurzel angelegt wird, eine axiale Strömung in den kortikalen Interzellularen der dekapitierten Seitenwurzeln erzeugt.

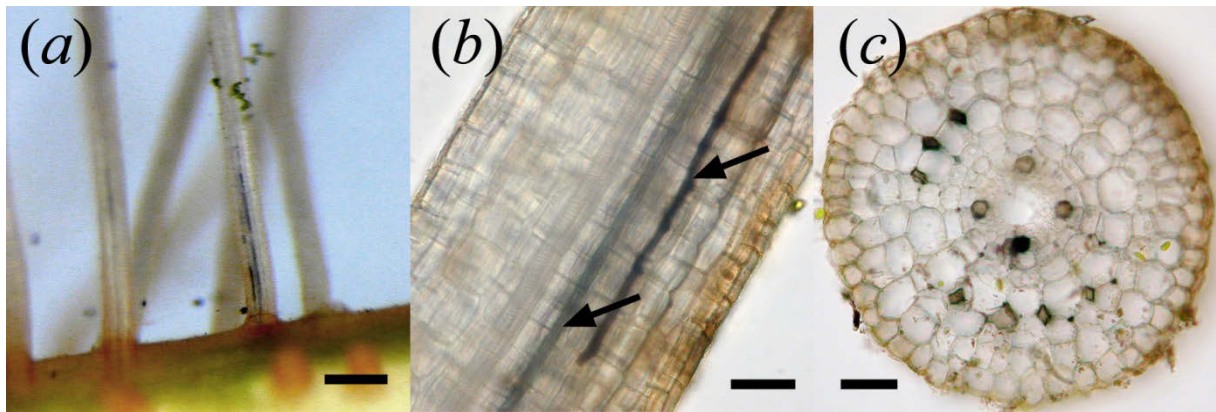


Abbildung 27: Nachweis der Strömung der Tuschesuspension in den stelaren Gefäßen und den kortikalen Interzellularkanälen der Seitenwurzeln.

Durch Anlegen eines Unterdruckes an die Stele der Adventivwurzel wurden Tuscheartikeln aus der Inkubationssuspension in dekapitierte Feinwurzeln eingesaugt. (a) Aufsicht auf eine Feinwurzel mit schwarz gefärbten kortikalen Interzellularen und Xylemgefäßen. (b) Ausschnittsvergrößerung mit gefärbten kortikalen Interzellularen (Pfeile). (c) Querschnitt durch eine relativ dicke Seitenwurzel mit Tuscheartikeln in den lateralen Xylemgefäßen und einigen kortikalen Interzellularräumen. Das zentrale Xylemgefäß wurde nicht gefärbt. Balken: (a) 300 µm, (b, c) 30 µm.

Bei den untersuchten halmbürtigen Adventivwurzeln des Schilfes war das Vorhandensein von Verletzungen an den Feinwurzeln davon abhängig, an welchem Standort die Wurzeln entnommen wurden. Während sie bei Wurzeln aus der hydroponischen Kultur des Gewächshauses selten waren, kam es bei den Wurzeln des Brackwasserstandortes bei Applikation eines hydrostatischen Druckes häufig zu einem beträchtlichen unselektiven Einstrom des Testmediums. Äußerlich waren diese Verletzungen durch das Fehlen der Wurzelspitzen, vor allem bei älteren Wurzeln, leicht sichtbar (vergl. Abbildung 25c) welche vermutlich durch Herbivoren entfernt wurden. Wurde der Volumenfluss durch Steigerung des hydrostatischen Druckes auf das Wurzelmedium erhöht, dichtete sich dieser unselektive Strömungsweg durch Verstopfung ab, was durch die Verringerung des Volumenflusses messbar wurde. Während dieser Zeit reduzierte sich auch das Konzentrationsverhältnis χ von Säurefuchsin zwischen Xylemsaft und Medium deutlich (nicht gezeigt). Wurden junge halmbürtige Wurzeln aus der Hydrokultur mit Säurefuchsin-Lösung infundiert, wurden Brüche an der Zweigwurzelbasis nach dem Herausheben aus dem Kulturmedium nur sehr selten beobachtet. Dies lag sicherlich an der geringen Länge der feinen Seitenwurzeln und der Lignifizierung der Wurzelbasis, welche die mechanische Stabilität der Wurzeln erhöhte (vergl. Abbildung 26, Abbildung 28).

2.2.2.2 Radiale Diffusion von Säurefuchsin durch die feinen Seitenwurzeln

Um die Barrierefunktion der Radialwände der Endodermis für das trivalente Anion des Natriumsalzes der Fuchsinssäure (Stokes Radius ca. 1 nm) zu untersuchen, wurde eine Säurefuchsin-Lösung (4 g l^{-1}) mit Überdruck in die Stele der maternalen Wurzel gepresst.

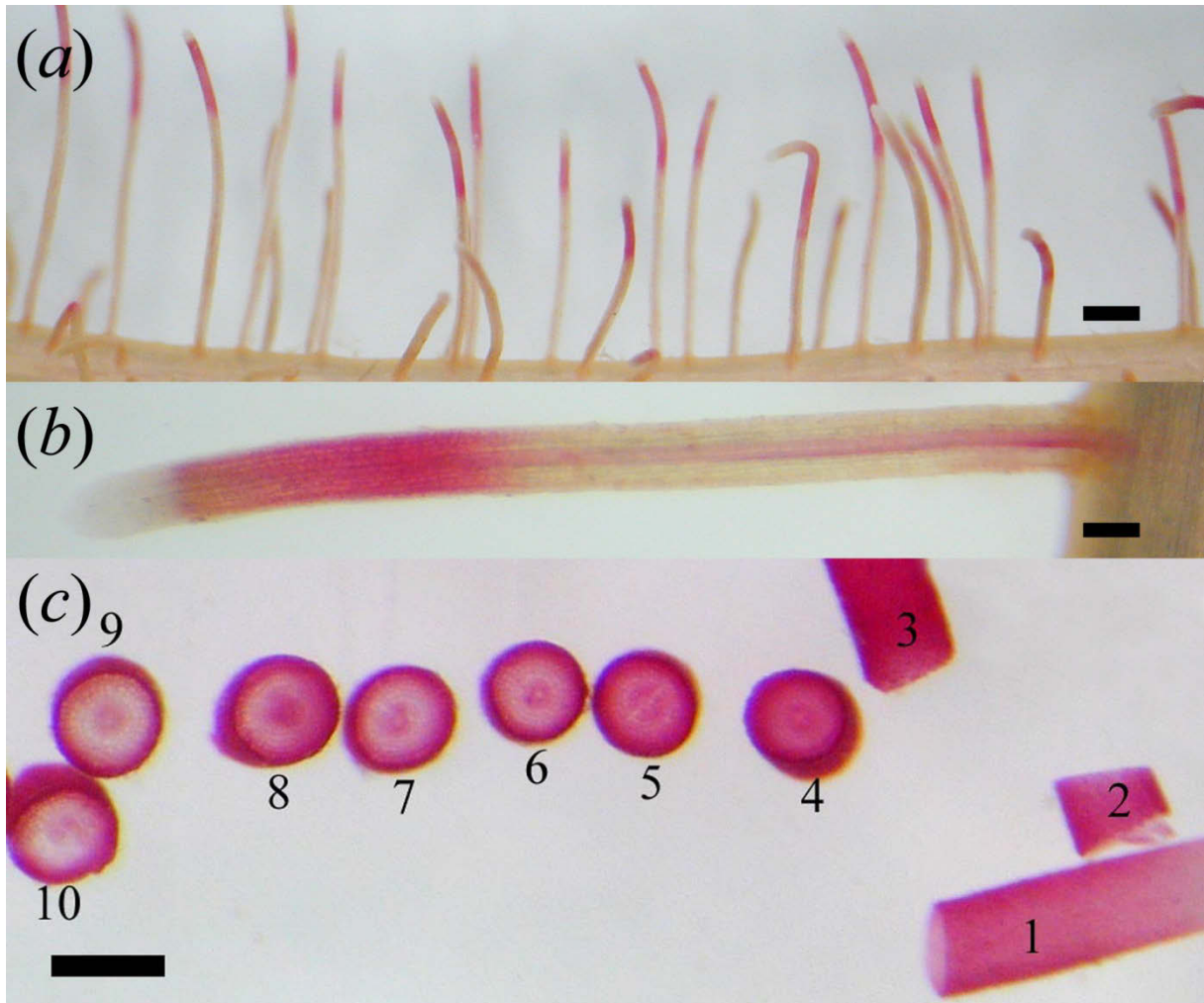


Abbildung 28: Radiale Permeation von Säurefuchsin in feinen Seitenwurzeln.

(a, b) Nach Druckperfusion des Xylems der Hauptwurzel mit einer Säurefuchsin-Lösung (4 g l^{-1} , 20 min, 4 bar) kommt es im basalen Teil der Feinwurzeln nur zu einer Färbung der Stele, während im subapikalen Bereich auch der Kortex gefärbt ist. Die Spitze der Feinwurzeln bleibt ungefärbt. (c) Querschnitte durch eine Feinwurzel, welche für 20 min in einer Säurefuchsin-Lösung (4 g l^{-1}) inkubiert wurde. Die Stele der Hauptwurzel wurde mit einer Wasserstrahlpumpe (Absolutdruck ca. 30 mbar) verbunden, um den radialen Wasserfluss zu erhöhen. Die Querschnitte wurden nach kurzem Waschen in Wasser angefertigt und entsprechend ihrer Position in der Wurzel angeordnet (Schnitt Nr. 10 ist 3 mm von der maternalen Wurzel entfernt). In größerer Entfernung von der Spitze wird der innere Teil des Kortex nur schwach gefärbt, was durch den verstärkten Diffusionswiderstand der Zellwände des äußeren Abschlussgewebes erklärt werden kann. Die im Vergleich zum kortikalen Gewebe stärkere Färbung der Stele weist hier auf den Axialfluss des Farbstoffes in den Xylemgefäßen hin. Balken: (a) 1 mm, (b, c) 200 μm .

Der Farbstoff wurde dabei auf dem stelaren Weg bis in die Feinwurzeln perfundiert. Im größten Teil dieser Wurzeln, wurde nur die Stele gefärbt, während es in einem subapikalen Bereich, welcher ca. 20 % der Wurzellänge ausmachte, auch zur starken Färbung des Kortex kam (Abbildung 28a, b). In der meristematischen Region in welcher die Xylemgefäße noch nicht funktionell sind kam es zu keiner Färbung der Gefäße und des Kortex. Zur Untersuchung der Barrierefunktion der Rhizodermis/Hypodermis für Säurefuchsin wurden halmbürtige Adventivwurzeln für 20 min in die Säurefuchsin-Lösung eingetaucht. Der Farbstoff penetrierte dabei auf der gesamten Länge der Feinwurzeln durch die Zellwände des Kortex (Abbildung 28c). Der Farbstoff färbte in der subapikalen den gesamten Kortex und die Stele stark an, während basalwärts ein zunehmender radialer Farbstoffgradient erkennbar war, der auf eine begrenzte Barrierefunktion der suberinisierten bzw. lignifizierten Epidermis-/Hypodermiswände hinweist (vergl. Abschnitt 2.2.2.1).

2.2.2.3 Volumenfluss durch die isolierten Seitenwurzeln

Die Flussrichtung des Xylemsaftes und des Saftes in den kortikalen Interzellularen konnte bei isolierten Feinwurzeln des Schilfes mit der Evans Blau-Methode sichtbar gemacht werden (Abbildung 29).

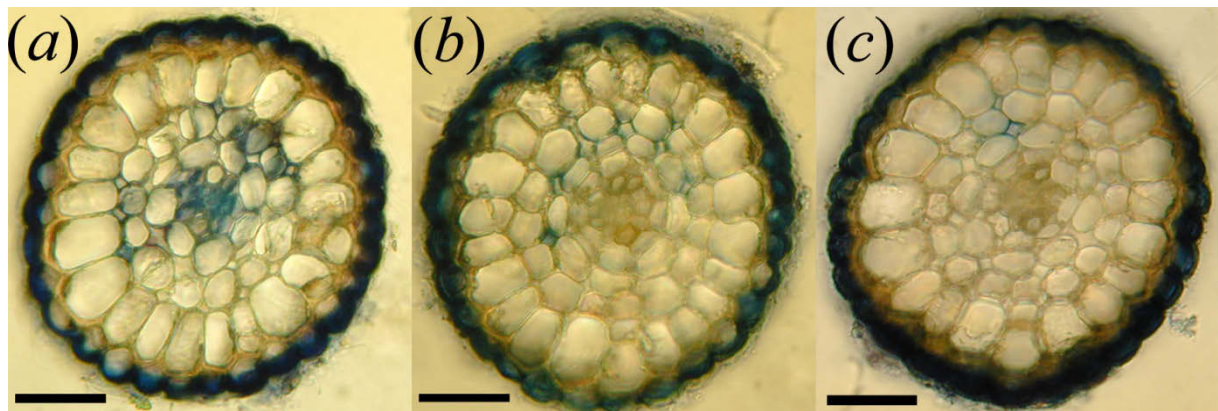


Abbildung 29: Färbung der Xylemgefäße und Interzellularspalten in Querschnitten nach der Inkubation einer Seitenwurzel in einer gegenüber dem Xylemsaft hypertonischen Evans Blau-Lösung.

(a-c) Eine abgetrennte feine Zweigwurzel wurde in einer zum Anzuchtmedium (Hydrokultur) hypertonischen Lösung aus PEG 600 (50 g l^{-1}) und Evans Blau (10 g l^{-1}) für 10 min inkubiert ($\pi_0 = 4,3 \text{ bar}$). Querschnitte wurden entlang der Wurzellänge mit einem Abstand von 3 mm (a), 10 mm (b) und 15 mm (c) zur Basis angefertigt. Alle Querschnitte wurden von einer Wurzel angefertigt. Balken: (a-c) $40 \mu\text{m}$.

Wie aus der Abbildung deutlich wird, konnte durch Überführen der abgetrennten Wurzel in eine zum Medium hypertonische Evans Blau-Lösung ein radialer Wasserfluss an der Wurzeloberfläche induziert werden. Dies führte am Schnittende der Wurzel zu einem Einsaugen der Farbstofflösung in die Xylemgefäße aber auch in die flüssigkeitsgefüllten

kortikalen Interzellularräume. Die Färbung der kortikalen Interzellularräume reichte dabei in apikaler Richtung weiter als die Färbung der Xylemgefäße (vergl. Abbildung 29a, c). Die Epidermis/Hypodermis war für Evans Blau undurchlässig.

Die Flussrichtung des Xylemsaftes in den abgetrennten Feinwurzeln konnte auch mit der Tusche-Methode bei unterschiedlichem osmotischem Druck des Mediums bestimmt werden. Dies ermöglichte es den osmotischen Druck des Xylemsaftes und dessen Variabilität abzuschätzen. Wenn die Tuschesuspension mit dem brackigen Wasser des Standortes angesetzt wurde, zeigten alle untersuchten Feinwurzeln, trotz des hohen osmotischen Druckes der Testlösung ($\pi_0 = 6,3$ bar), nach einer Minute einen deutlichen Axialfluss an der basalen Schnittstelle (Abbildung 30a). Nach Abtrennen der Wurzelspitze wurde eine deutliche Exsudation an beiden Schnittenden beobachtet (Abbildung 30b). Nach Freilegen der Stele an der Feinwurzelbasis zeigte sich, dass sowohl aus der Stele als aus dem Kortex Flüssigkeit austrat (Abbildung 30c). Dies wurde mit Feinwurzeln von Frischwasser- oder Brackwasserstandorten beobachtet, wenn die Tusche-Suspension mit dem Wasser des Standortes angesetzt wurde.

Flüssigkeitsgefüllte Interzellularkanäle im Kortex traten nicht nur beim Schilf, sondern wie in Abbildung 31 gezeigt auch bei den Feinwurzeln anderer heliophytischer Gramineen auf. Die abgetrennten Feinwurzeln des Schilfes und von *Bolboschoenus maritimus* L. gaben an ihrer Schnittstelle nicht nur Xylemsaft, sondern auch apoplastische Flüssigkeit aus dem Kortex in die Tuschesuspension ab, wenn letztere mit dem Wasser des Standortes angesetzt wurde. Bei den Wurzeln der anderen untersuchten Arten (*Schoenoplectus lacustris* L., *Glyceria maxima* HARTM. und *Acorus calamus* L.) gelang es nicht, die Stele frei zu präparieren, da diese Wurzeln nicht steif genug waren um den Kortex mit der Pinzette zu fixieren ohne die Wurzel zu quetschen oder zu verletzen. Das Einsaugen einer hypertonen Evans Blau-Lösung in die nativ flüssigkeitsgefüllten Interzellularkanäle der Feinwurzeln wurde bei allen untersuchten Gramineen festgestellt.

Wurden die Adventivwurzeln des Schilfes dem Brackwasserstandort entnommen und im Brackwasser untersucht, dauerte die Exsudation aus dem Kortex mehr als 30 min an. Auch nach mehrmaligem Verwischen der Schliere durch die Bewegung des Objekträgers wurden neue helle Zonen am Kortex gebildet. Allerdings war der Fluss aus dem Kortex weniger beständig als der aus der Stele (nicht gezeigt).

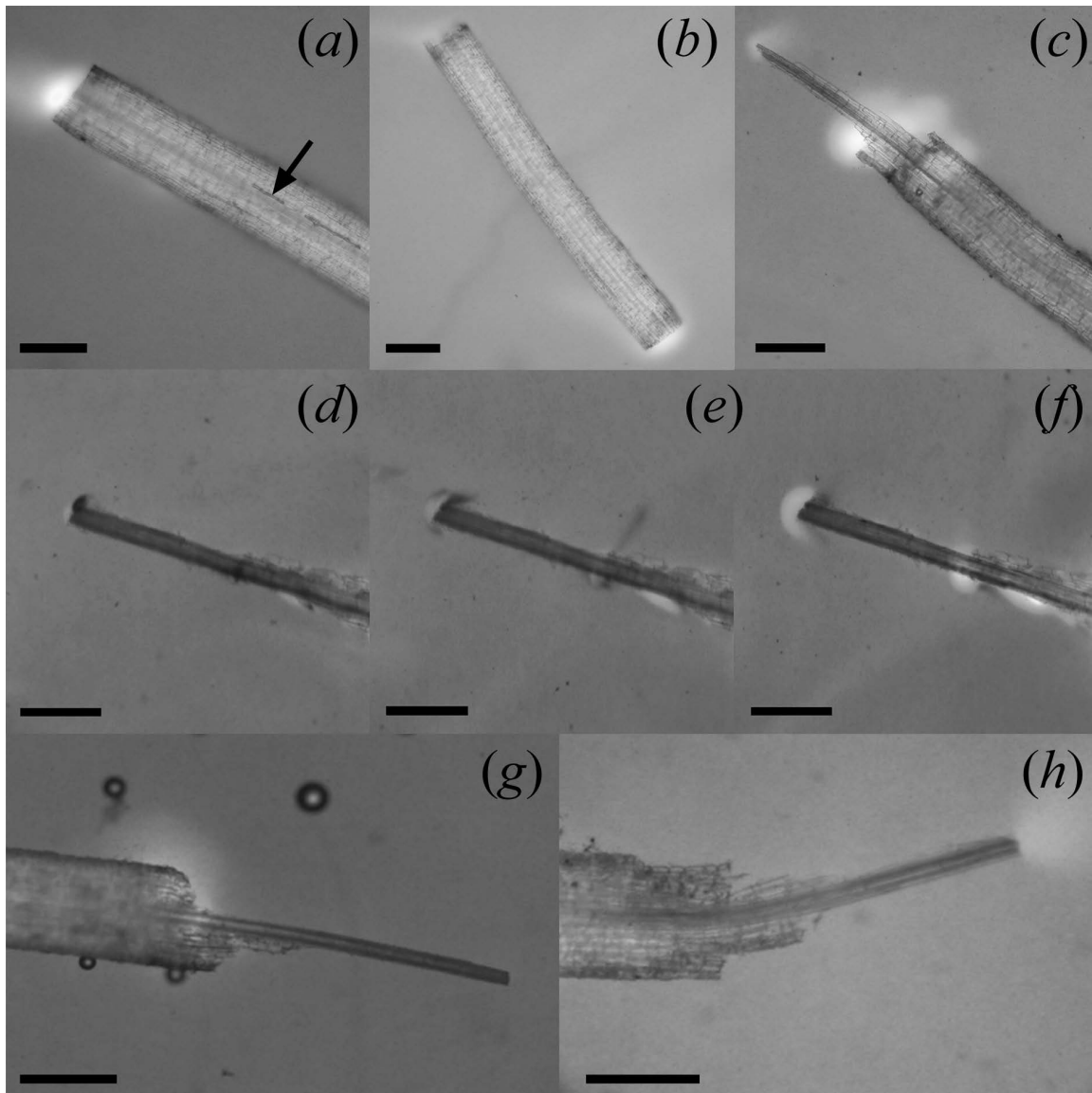


Abbildung 30: Ausströmen von Xylemsaft und Interzellularflüssigkeit aus isolierten Seitenwurzeln in die Tuschesuspension.

Durch Volumenfluss in die Tuschesuspension entstehen bei der Verdrängung der Tuschepartikeln helle Zonen. (a-c) Volumenfluss in das brackige Wasser des Standortes (120 mM NaCl, $\pi_0 = 6,3$ bar). (a) Exsudataustritt am glatten Schnittende einer Feinwurzel. Im Bereich der kortikalen Interzellularen ist eine partielle Gasfüllung als lokale Verdunklung der ansonsten durchscheinenden Feinwurzel zu erkennen (Pfeil). (b) Exsudation an beiden Schnittstellen eines Wurzelsegments. (c) Gleichzeitige Exsudation an Stele und Kortex. (d-f) Eine konzentrierte Tuschesuspension wird nach vorübergehender Flussumkehr aus der freigelegten Stele der Wurzel herausgepresst. Aufnahmen in einem Zeitabstand von 10 s, 4 min nachdem nach dem Umsetzen der Wurzel aus dem Brackwassermedium in eine Tuschesuspension (200 mM NaCl, $\pi_0 = 8,5$ bar). (g) Zeitweilige Unterdrückung der stelaren Exsudation 5 min nach der Erhöhung der NaCl Konzentration von 120 mM auf 250 mM. Die Exsudation aus den kortikalen Interzellularen hat bereits wieder eingesetzt. (h) Permanente Unterdrückung der kortikalen Exsudation nach dem Umsetzen aus dem Standortmedium in das brackige Medium des Standortes, welches zusätzlich 50 mM Natriumcitrat enthält (partieller osmotischer Druck des Natriumcitrats 3,0 bar). Die stelare Exsudation wird nicht unterdrückt. Balken: (a-c, g-h) 150 μm , (d-f) 50 μm .

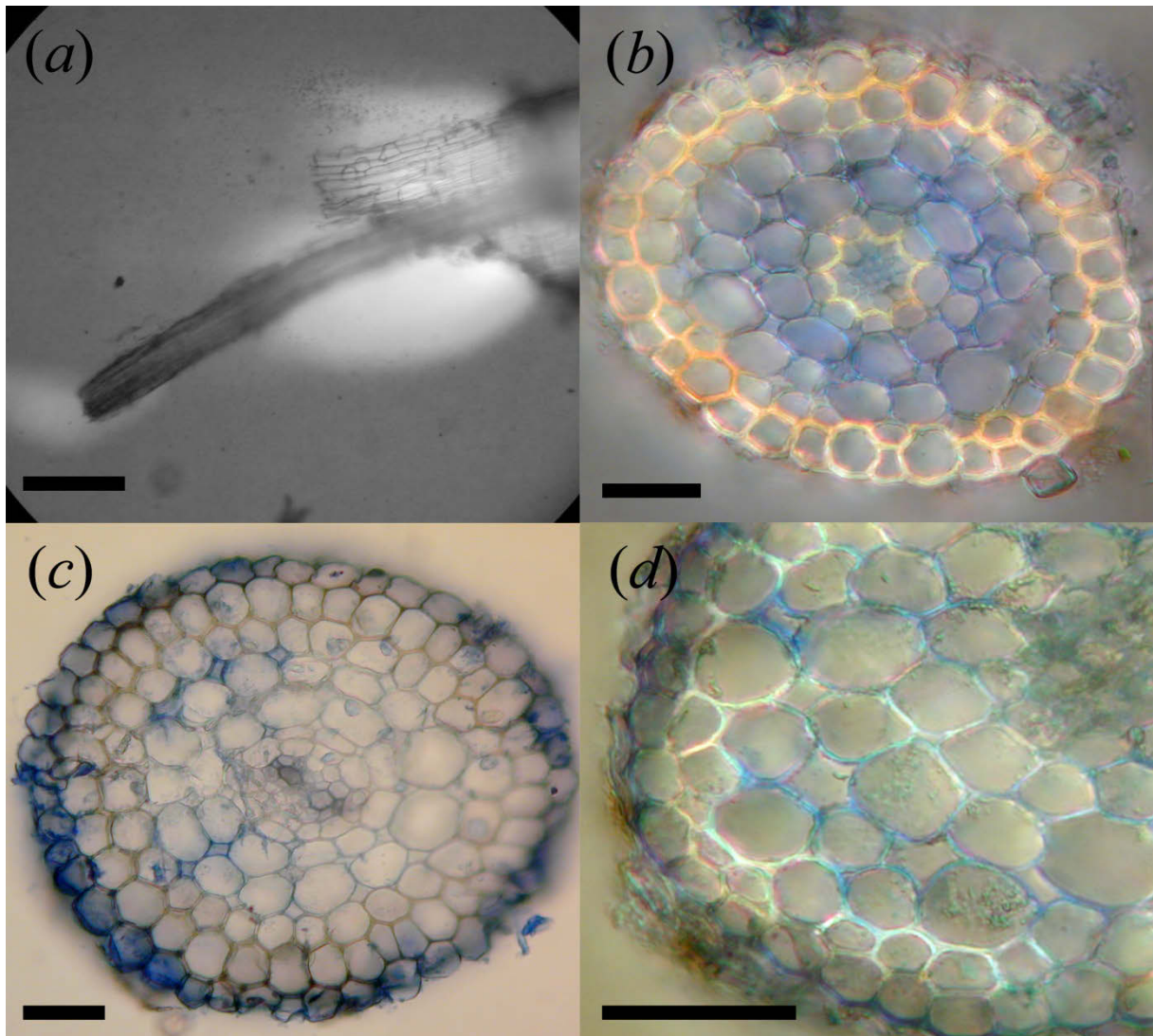


Abbildung 31: Volumenfluss in den kortikalen Interzellularen isolierter Seitenwurzeln verschiedener Heliophyten.

(a) Exsudation einer Feinwurzel von *Bolboschoenus maritimus* in das Brackwasser des Vitter Boddens (Standort Kloster, $\pi_0 = 6,3$ bar). (b-d) Querschnitte durch Seitenwurzeln von *Schoenoplectus lacustris* (b), *Glyceria maxima* (c) und *Acorus calamus* (d) von einem Süßwasserstandort (Grimnitzsee) nach Inkubation in einer hypertonischen Evans Blau-Lösung (Osmolyt PEG 600, $\pi_0 = 4,5$ bar). Balken: (a) 100 μm , (b-d) 30 μm .

Nach Überführung der Feinwurzeln aus dem brackigen Wurzelmilieu in eine Testlösung mit deutlich erhöhter NaCl-Konzentration kehrte sich die Flussrichtung auf beiden Wegen zunächst um. Der Einstrom der Partikeln in die axialen Leitungsbahnen konnte dabei unter dem Mikroskop in Echtzeit beobachtet werden. Bei einer nur moderaten Erhöhung des osmotischen Druckes dauerte der Einstrom nur wenige Minuten an und wurde von einem Herausströmen der Partikeln abgelöst. In einzelnen Fällen kam es zu einem plötzlichen ausbruchartigen Austreten der eingesaugten Partikeln aus den Xylemgefäßen, was durch eine vorübergehende Verstopfung der Xylemgefäße erklärt werden kann (Abbildung 30d-f). Ein solcher ausbruchartiger Ausstrom wurde am Kortex nie beobachtet. Bei Verwendung

von NaCl als Osmolyt erholte sich der Volumenfluss aus der Stele später als derjenige aus dem Kortex (Abbildung 30g). Wurde der mit dem brackigen Medium des Standortes angesetzten Tuschesuspension Natriumcitrat (50 mM) hinzugefügt, kam es zur langandauernden oder permanenten Unterdrückung des Flusses aus den Interzellularen des Kortex während der Fluss aus den Xylemgefäßen der Stele nicht unterdrückt wurde oder sich schnell wieder erholte (Abbildung 30h).

Selbst nach Erhöhung des osmotischen Druckes der Tuschesuspension auf 8,5 bar durch NaCl-Zusatz exsudierten nach 10 min wieder 60 % der Feinwurzeln wenn sie einem Brackwasserstandort entstammten (Tabelle 16). Bei der alleinigen Verwendung von Natriumcitrat war dagegen ein osmotischer Druck von 4,8 bar ausreichend, um die Exsudation aus Stele und Kortex aus den Feinwurzeln des Brackwasserstandortes dauerhaft zu verhindern. Wurde Natriumcitrat als Osmolyt verwendet war die Fähigkeit zur stelaren Exsudation nach 10 minütiger Inkubation im Testmedium größer als die Fähigkeit zur kortikalen Exsudation; bei der Verwendung von NaCl war dies umgekehrt. Unabhängig vom verwendeten Osmolyt verringerte sich der Anteil der Wurzeln, welche eine kortikale Exsudation zeigten, mit zunehmender Inkubationsdauer.

Tabelle 16: Fähigkeit isolierter Schilf-Seitenwurzeln zur anfänglichen und permanenten Exsudation aus dem Kortex und der Stele in Lösungen unterschiedlicher Osmolyte.

	Konzentration [mM]	π_0 [bar]	Prozentsatz an Wurzeln mit kortikaler Exsudation		Prozentsatz an Wurzeln mit stelarer Exsudation	
			initial	nach 10 min	initial	nach 10 min
NaCl (n ≥ 10)	150	6,4	100	100	100	100
	200	8,5	80	70	50	60
	250	10,6	79	57	7	14
Natriumcitrat (n ≥ 14)	20	1,2	100	100	100	100
	30	1,8	86	79	100	100
	40	2,4	86	57	71	100
	50	3,0	64	14	93	93
	60	3,6	86	0	71	100
	80	4,8	64	0	36	0

Die Tusche-Suspensionen wurden mit Leitungswasser und den entsprechenden Osmolyten angesetzt. Die Seitenwurzeln wurden den Adventivwurzeln des Schilfes am brackigen Standort Kloster ($\pi_0 \approx 6,3$ bar) entnommen. Alle Natriumcitrat-haltigen Testlösungen waren hypotonisch, alle NaCl-Lösungen hypertonisch zum Brackwasser des Standortes.

Die Fähigkeit der Wurzel zur Exsudation in osmotisch wirksamen Elektrolytlösungen war umso geringer, je größer die Molmasse des Anions war (Tabelle 17). In Lösungen von Natriumcitrat oder -polyacrylat reichte ein zum Brackwasser hypotonischer osmotischer Druck, um den Ausstrom aus Stele und Kortex zu verhindern bzw. umzukehren.

Tabelle 17: Kritischer Osmotischer Druck verschiedener Osmolyte für die Reversion des Gesamtflusses aus Stele und Kortex in 50 % der isolierten Seitenwurzeln (π_{50}).

Standort	Kritischer osmotischer Druck π_{50} [bar]		
	NaCl	Natriumcitrat	Natriumpolyacrylat (2100 g mol ⁻¹)
Grimnitzsee (Frischwasser)	3,3 (n = 1; r = 51)	nicht bestimmt	0,29 (n = 1; r = 33)
Kloster (Brackwasser, $\pi_0 = 6,3$ bar)	8,9 ± 1,8 (n = 11; r = 910)	2,02 ± 0,22 (n = 9; r = 555)	1,56 ± 0,35 (n = 7; r = 470)
Meldorf (Brackwasser, $\pi_0 \approx 14,3$ bar)	16,3 (n = 1; r = 55)	nicht bestimmt	nicht bestimmt

Mittelwerte ± Standardabweichung. n: Anzahl der Wiederholungen, r: Anzahl der Wurzeln welche für die Bestimmung der Medianwerte verwendet wurden. Die mit den Wurzeln des Standortes Kloster bestimmten Mittelwerte für die untersuchten Osmolyte unterscheiden sich signifikant (Irrtumswahrscheinlichkeit < 5%).

2.2.2.4 Hydraulische Effizienz hoher Konzentrationen von PEG 600 und NaCl an intakten Adventivwurzeln

Wenn beim isotonischen Medienwechsel ein Osmolyt mit geringerem Diffusionskoeffizienten gegen einen Osmolyten mit kleinerem Teilchenradius bzw. größerem Diffusionskoeffizienten ausgetauscht wird, ist anzunehmen, dass sich das Diffusionsgleichgewicht der kleineren Teilchen an der Wurzeloberfläche schneller einstellt als das der größeren. Dies muss dazu führen, dass der wirksame osmotische Druck für den Radialtransport des Wassers und damit der Volumenfluss vorübergehend zunimmt. Umgekehrt ist eine vorübergehende Absenkung des osmotischen Druckes an der Oberfläche der Feinwurzeln anzunehmen, wenn eine Lösung kleiner Teilchen isotonisch gegen eine Lösung größerer Teilchen ausgetauscht wird. Um diese Hypothese zu prüfen, wurde der Xylemsaftfluss einer Adventivwurzel vor und nach isotonischen Medienwechsel registriert, bei dem

das Brackwassermedium gegen ein Medium ausgetauscht wurde, das durch Mischen des Brackwassers mit einer isotonisch eingestellten Lösung von PEG 600 im Verhältnis 1:1 entstand (Abbildung 32).

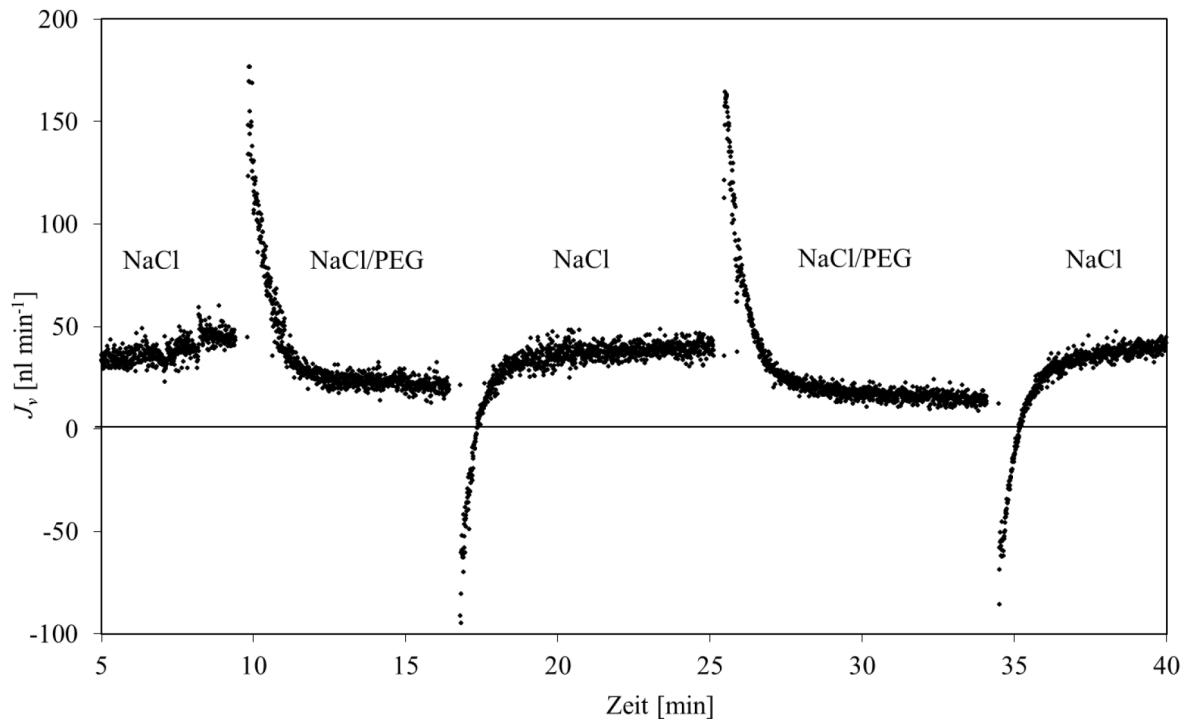


Abbildung 32: Vorübergehende Änderung der Exsudationsgeschwindigkeit isolierter Adventivwurzeln beim Wechsel des Brackwassermediums gegen eine Mischung von Brackwasser mit einer isotonischen Lösung von PEG 600.

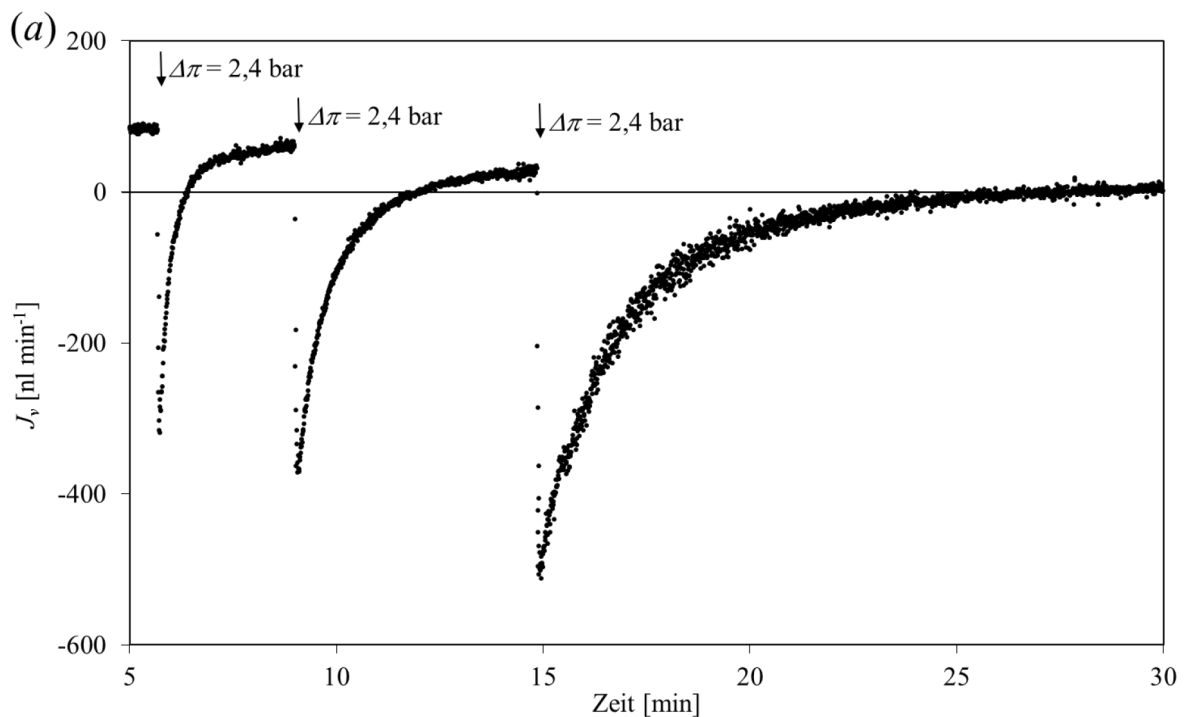
Das Volumenverhältnis der Mischung betrug 1:1. Das Experiment wurde mit Wurzeln des Standortes Kloster durchgeführt. Der osmotische Druck des Brackwassers betrug 6,3 bar. Während des Umsetzens der Wurzel wurde die Aufzeichnung der Exsudationsgeschwindigkeit unterbrochen, die Aufzeichnung der Zeit war kontinuierlich.

Kurz nach dem Medienwechsel vom Brackwassermedium zum Brackwasser-PEG-Gemische war der Volumenfluss stark erhöht. Das Maximum war nach weniger als 25 s erreicht. Sein Zeitpunkt konnte aus methodischen Gründen (Erschütterung der Schläuche beim Umsetzen der Wurzel) nicht genau festgestellt werden. Danach fiel der Fluss im Verlauf von zwei bis drei Minuten auf einen annähernd stationären Wert, der deutlich unter dem lag, der im reinen Brackwasser gemessen wurde. Nach der Rückführung ins reine Brackwassermedium war eine starke vorübergehende Hemmung mit ähnlichem Zeitverlauf festzustellen. In diesem Fall war der stationäre Fluss wieder deutlich höher als im isotonischen PEG-haltigen Medium. Die beschriebenen Effekte waren sehr gut reproduzierbar.

Das Phänomen wurde auch an Maiswurzeln festgestellt, die mit geringer Geschwindigkeit in Lösungen von 80 mM NaCl exsudierten. Auch hier wurde nach dem isotonischen

Wechsel des NaCl-Medium gegen ein Mannitol- oder PEG 600-Medium die Exsudationsgeschwindigkeit vorübergehend erhöht, während der isotonische Wechsel vom Medium mit dem größeren Osmolyten gegen ein Medium mit dem kleineren Osmolyten stets eine vorübergehende Depression der Exsudation bewirkte (Ergebnisse nicht dargestellt).

Wurde die Kinetik des Xylemsaftstromes an intakten halmbürtigen Wurzeln nach schrittweiser Zugabe von NaCl bzw. PEG 600 zum brackigen Wurzelmedium untersucht, kam es in beiden Fällen bereits nach einer moderaten Steigerung des osmotischen Druckes im Medium zu einer vorübergehenden initialen Umkehr des axialen Wasserflusses (Abbildung 33a, b). Innerhalb von 5 - 20 s wurde die maximale Änderung des Xylemsaftflusses erreicht, wobei die Flussrichtung vorübergehend ins Negative wechselte. Innerhalb weniger Minuten regenerierte sich der Fluss teilweise, um einen relativ konstanten Wert auf verringertem Niveau zu erreichen. Bei Zusatz von PEG 600 war eine mittlere Erhöhung des osmotischen Druckes des brackigen Mediums um ca. 2,3 bar ausreichend, um den Ausstrom des Xylemsaftes in den untersuchten Adventivwurzeln dauerhaft zu unterbinden. Eine wesentlich stärkere Steigerung des osmotischen Druckes ($\Delta\pi > 8$ bar) war erforderlich, um die gleiche Hemmwirkung durch Zugabe von NaCl zum Brackwasser zu erzielen (Abbildung 33c).



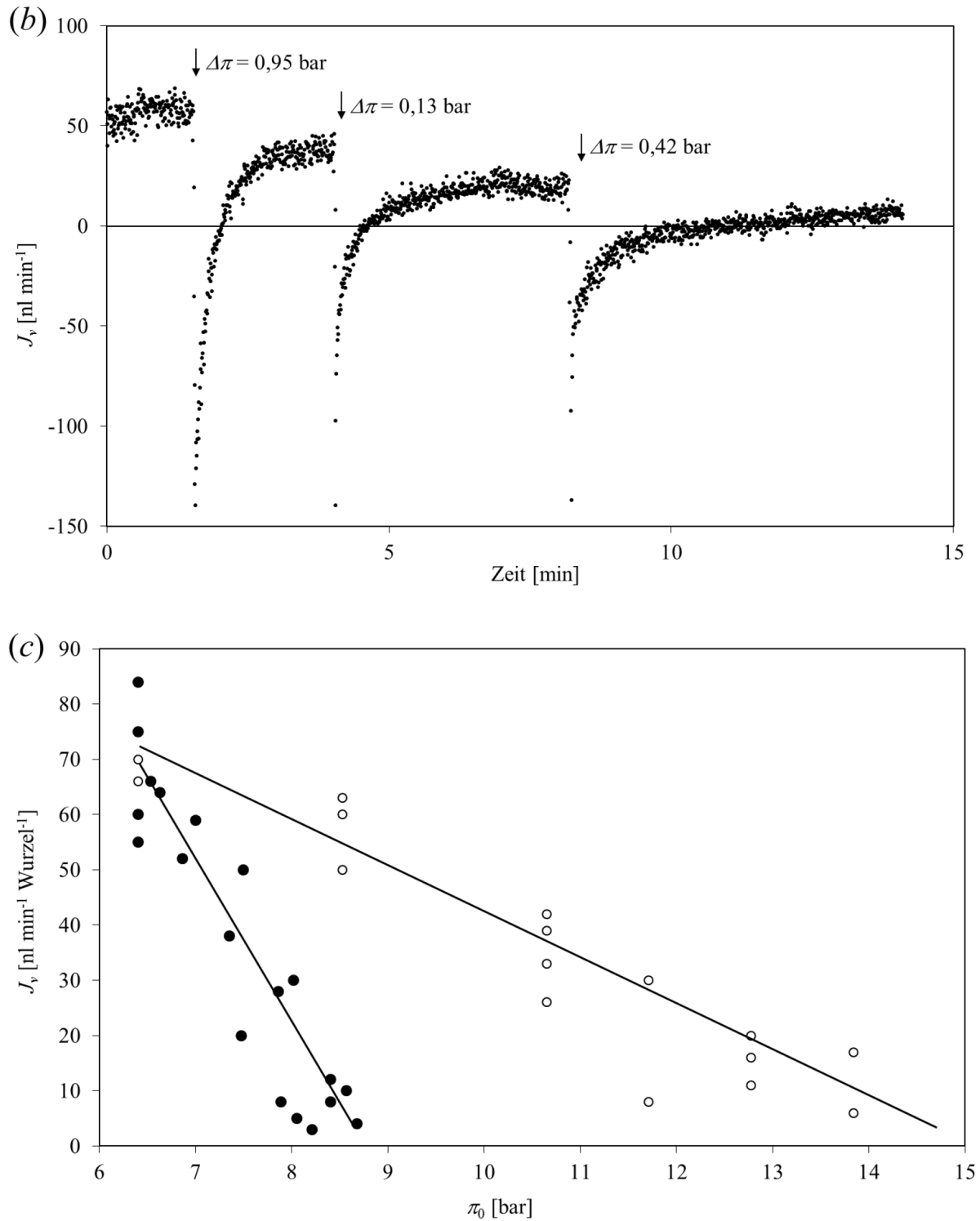


Abbildung 33: Hydraulische Wirkung von NaCl und PEG 600 auf den Xylemsaftfluss.

Zeitverlauf der Exsudation nach Zugabe von NaCl (a) und PEG 600 (b) zum brackigen Wurzelmedium, welches anfänglich 120 mM NaCl enthielt. (c) Abhängigkeit des stationären Xylemsaftflusses (J_v) vom osmotischen Druck des Mediums. Die schrittweise Veränderung des osmotischen Druckes wurde bei den vier untersuchten Wurzeln sowohl mit NaCl (Kreise) als auch mit PEG (Punkte) durchgeführt, wobei bei zwei Wurzeln mit der Zugabe von PEG 600 und bei den anderen mit NaCl begonnen wurde. Vor dem Wechsel des Osmolyten wurden die Wurzeln 30 min in frischem Brackwasser des Standortes inkubiert.

Bei Wurzeln des Brackwasserstandortes Kloster betrug die Halbwertszeit der Erholung der Exsudationsgeschwindigkeit aus dem temporären Minimum nach moderater Erhöhung des osmotischen Druckes des Mediums $15,7 \pm 4,5$ s bei den Wurzeln des Süßwasserstandortes $20,9 \pm 6,2$ s (Tabelle 18). Bei den Wurzeln des Frischwasserstandortes war sowohl die Exsudationsgeschwindigkeit als auch die Effizienz der Wirkung des Osmolyten (PEG 600) auf die dauerhafte Änderung der Exsudationsgeschwindigkeit größer als bei den Wurzeln des Brackwasserstandortes. Wie bei den untersuchten Maiswurzeln war der Quotient zwischen der maximalen und der permanenten Flussänderung bei den Wurzeln größer, welche in einem Medium mit hoher Salzkonzentration exsudierten.

Tabelle 18: Einfluss der Salzkonzentration des Standortwassers auf die Änderung des Xylemsaftflusses in Adventivwurzeln des Schilfes nach Erhöhung der Salzkonzentration.

	Frischwasserstandort	Brackwasserstandort
Ausgangsfluss J^0 [nl min ⁻¹ Wurzel ⁻¹]	445 ± 248	84 ± 74
Halbwertszeit des Überganges von der maximalen Flussänderung (ΔJ_{\max}) zur permanenten Flussänderung ($\Delta J_{v\pi}$) τ [s]	20,9 ± 6,2	15,7 ± 4,5
Verhältnis zwischen der maximalen und der permanenten Flussänderung $\Delta J_{\max} / \Delta J_{v\pi}$	1,53 ± 0,23	10,8 ± 1,1
Permanente Änderung der Exsudationsgeschwindigkeit bezogen auf die Änderung von π_0 [μl min ⁻¹ bar ⁻¹ Wurzel ⁻¹]	0,45 ± 0,13	0,068 ± 0,043

Der osmotische Druck des Mediums π_0 wurde durch Zugabe von PEG 600 um 78 mbar (Frischwasser) oder 93 mbar (Brackwasser) erhöht. Mittelwerte ± Standardabweichung. Frischwasserstandort (n = 6), Brackwasserstandort (n = 8).

Wurde die stationäre Exsudationsgeschwindigkeit nach Änderung des radialen Wasserpotenzialgradienten an halmbürtigen Adventivwurzeln des Schilfes eines Brackwasserstandortes untersucht, deren Feinwurzeln viele native Verletzungen im Bereich des Wurzelapex aufwiesen, so war die Effizienz der hydrostatisch bedingten Änderung immer deutlich größer als die Effizienz der osmotisch bedingten Änderungen (nicht gezeigt). Wurden Adventivwurzeln eines Süßwasserstandortes untersucht ($J_v \approx 0,5$ μl min⁻¹ Wurzel⁻¹),

deren Wurzeln äußerlich intakt erschienen, war die Effizienz des hydrostatischen ($\Delta p = 85$ mbar) und des osmotischen Druckes ($\Delta \pi = 80$ mbar, Osmolyt PEG 600) auf die Flussänderung bei einer der untersuchten Wurzel identisch, in weiteren Fällen ($n = 4$) betrug die Abweichung weniger als 20 %.

Der Übergang von der maximalen Flussänderung zum stationären Fluss nach hydrostatischer Druckapplikation ($\Delta p = 85$ mbar) ließ sich mit einer zusammengesetzten Exponentialfunktion besser beschreiben, als mit einer einfachen (vergl. Abschnitt 2.1.10). Die mittlere Halbwertszeit des schnell abklingenden Prozesses (τ_1) betrug $2,9 \pm 1,6$ s, die des langsam abklingenden Prozesses (τ_2) $22,5 \pm 10,5$ s ($n = 14$). Wurzeln des Brackwasserstandortes unterschieden sich in dieser Hinsicht nicht signifikant von solchen des Süßwasserstandortes.

2.2.2.5 Austauschdiffusion von Li^+ und Na^+

Bei Vorliegen eines apoplastischen Radialtransportes von NaCl in die Xylemgefäße sollte Na^+ im kortikalen Apoplasten und nachfolgend im austretenden Xylemsaft nach einem Austausch des NaCl-Mediums gegen ein isomolares LiCl-Medium ohne große Verzögerung durch Li^+ ersetzt werden. Die Untersuchung dieser Frage wurde mit hydrostatisch unterstütztem Wasserfluss durchgeführt, um die Retentionszeit im Xylem zu reduzieren und den Xylemsaftfluss zu stabilisieren (Abbildung 34).

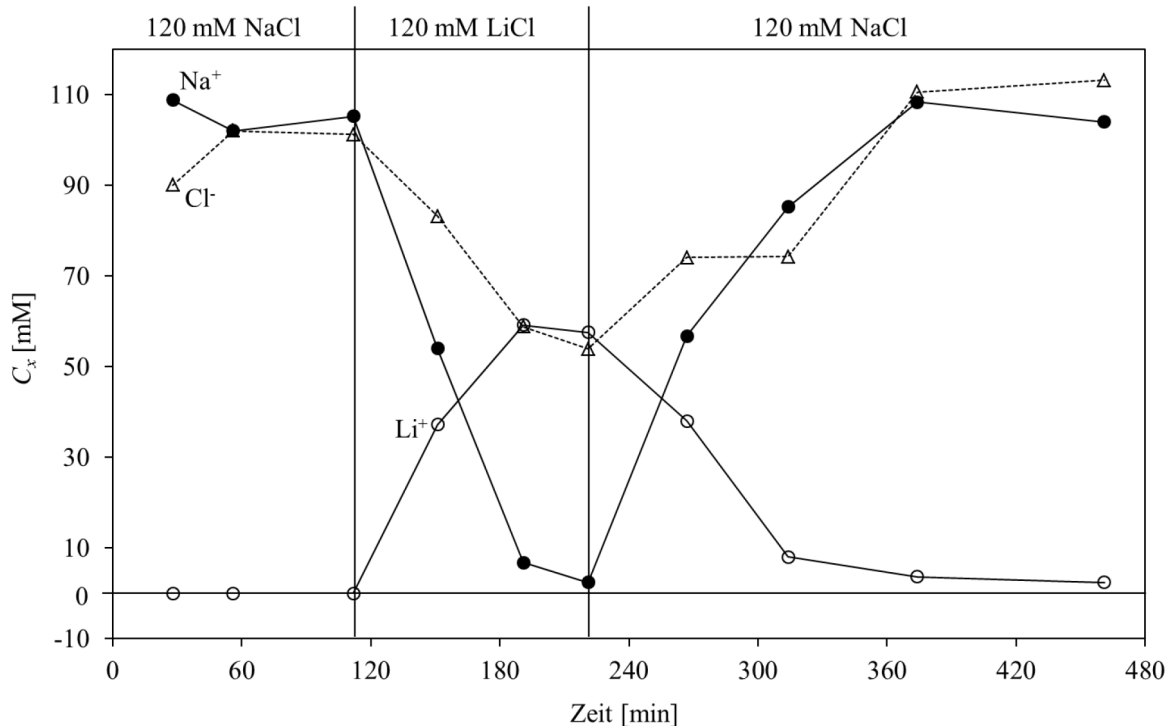


Abbildung 34: Abhängigkeit der Konzentrationen von Na^+ , Li^+ und Cl^- im Xylemsaft einer Adventivwurzel des Schilfes von ihrer Anwesenheit im Medium.

Die Adventivwurzel von einem brackigen Standort (Kloster) wurde nacheinander in isomorale Medien von Na^+ (Punkte) und Li^+ (Kreise) inkubiert, welche als Chloride (Dreiecke) vorlagen. Der Xylemsaftfluss wurde durch Überdruck ($\Delta p = 2$ bar) auf das Medium gefördert, er verringerte sich während des Untersuchungszeitraumes von 1 auf $0,5 \mu\text{l min}^{-1}$. Der Zeitpunkt des Medienwechsels wird durch die vertikalen Linien verdeutlicht.

Die Konzentration des Na^+ im Xylemsaft sank nach Überführen in das LiCl Medium innerhalb von 2 h von ca. 100 mM auf ca. 2,5 mM ab. In derselben Zeit erreichte Li^+ eine Konzentration von ca. 60 mM im Exsudat. Nach dem Rücktransfer aus dem LiCl-Medium in das NaCl-Medium wurde Li^+ im Xylemsaft wieder gegen Na^+ ausgetauscht. Die Konzentration von Cl^- im Xylemsaft entsprach in den Austauschphasen zu allen Zeiten etwa der Summe von Li^+ und Na^+ . Bei einer Parallelprobe lag die Li^+ -Konzentration im Presssaft der Wurzeln nach 2-stündiger Inkubation in dem LiCl Medium unter 5 mM.

2.2.2.6 Konzentration von Natrium-, Kalium- und Chloridionen im Xylemsaft von exsudierenden Adventivwurzeln

Halmbürtige Adventivwurzeln die dem Brackwasserstandort entnommen wurden, zeigten einen beständigen Fluss des Xylemsaftes im brackigen Medium ihres Standortes (vergl. Abbildung 33a). Die Konzentration von Na^+ und Cl^- im Xylemsaft war stets größer als 2/3 der jeweiligen Konzentration im Medium, überschritt diese jedoch nie (Tabelle 19).

Tabelle 19: Osmotischer Druck und Konzentration ausgewählter Elektrolyte im Xylemsaft exsudierender Adventivwurzeln des Schilfes an einem Brackwasserstandort.

	Volumenfluss [$\mu\text{l h}^{-1}$]	Osmotischer Druck [bar]	Konzentration [mM]		
			Na^+	K^+	Cl^-
Juni 2006 (n = 20) 0 - 4 h ^a	3 ± 2	6,8 ± 0,1	84 ± 3	33 ± 3	73 ± 10
Mai 2007 (n = 24) 0 - 4 h ^a 4 - 16 h ^a	9 ± 5	8,0 ± 0,6	109 ± 4	28 ± 5	71 ± 8
	3 ± 1	8,3 ± 1,2	105 ± 10	11 ± 2	115 ± 9
Juni 2009 (n = 9) 0 - 1,5 h ^a 1,5 - 16,5 h ^a	25 ± 10	6,9 ± 0,6	92 ± 13	13 ± 8	91 ± 11
	5 ± 2	6,9 ± 1,7	113 ± 2	15 ± 3	115 ± 5
Typische Analyse des Brackwassers		6,3	120	2,5	120

^a Sammelperiode nach Abtrennen vom Halm. Pflanzen wurden am Standort Kloster entnommen. Mittelwerte ± Standardabweichung.

Der osmotische Druck des gesammelten Saftes war stets größer als der des Mediums. Dies kann mit dem Beitrag der Aminosäuren sowie der Organat-, Nitrat-, Phosphat- und Sulfationen (nicht analysiert) und verschiedener Kationen erklärt werden. Kaliumionen lagen im Xylemsaft rein osmotisch exsudierender halmbürtiger Adventivwurzeln im Vergleich zum Medium (2,5 mM) in deutlich höherer Konzentration vor (13 - 33 mM). Mit zunehmender Exsudationsdauer verringerte sich der Xylemsaftfluss, dabei verringerte sich das K^+/Na^+ -Verhältnis, während sich die Konzentration von Cl^- erhöhte.

2.2.2.7 Verdünnung des Xylemsaftes durch den hydrostatisch angetriebenen radialen Volumenfluss

Um die Abhängigkeit der Permeation von NaCl durch die Endodermis vom radialen Wasserfluss zu untersuchen, wurden die Konzentrationen von Na^+ und Cl^- im Exsudat von Wurzeln gemessen, wobei der Wasserfluss durch Applikation von radialen hydrostatischen Druckdifferenzen gesteigert wurde. Abbildung 35 zeigt die Abnahme des Verhältnisses χ zwischen Xylemsaftkonzentration und Mediumkonzentration für beide Ionen in Abhängigkeit vom Volumenfluss des Xylemsaftes.

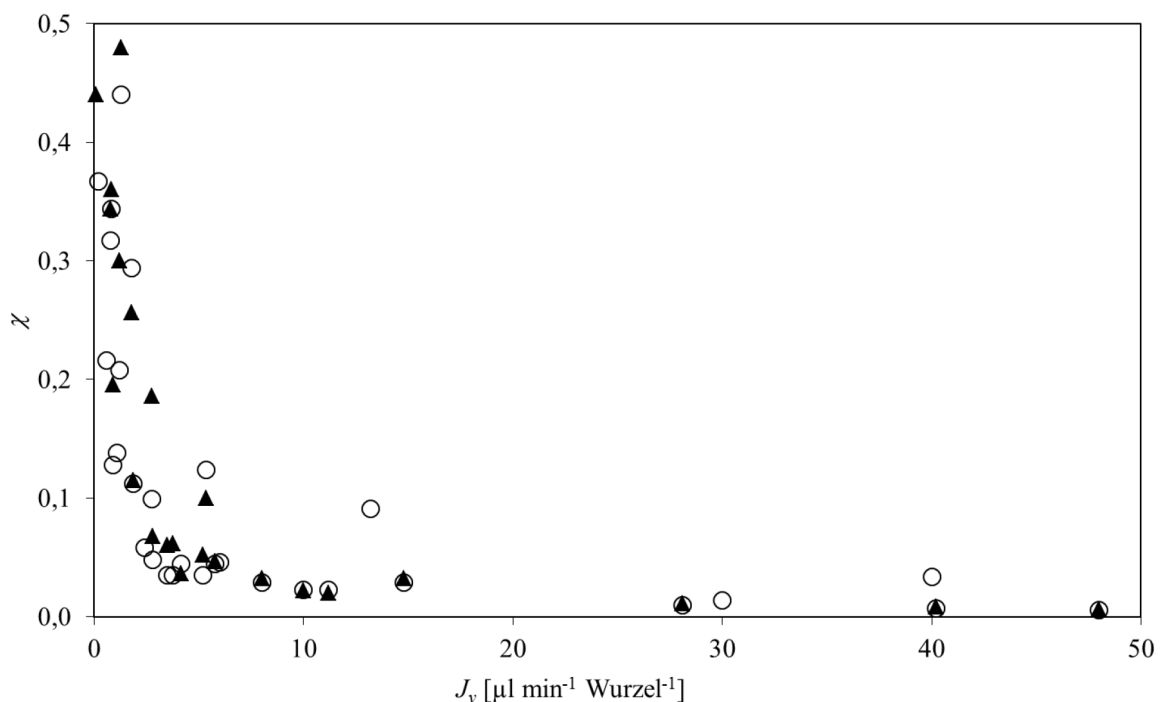


Abbildung 35: Abhängigkeit des Verteilungskoeffizienten χ von Natriumionen und Chloridionen zwischen dem Xylemsaft und dem Medium vom radialen Volumenfluss.

Der Volumenfluss wurde durch Applikation von Überdruck ($\Delta p_{\text{max}} = 10$ bar) auf das Medium des Standortes (120 mM NaCl) variiert und gravimetrisch gemessen. Kreise: Na^+ , Dreiecke: Cl^- .

Bei Druckdifferenzen von 1- 2 bar war J_v wenig gegenüber dem rein osmotisch bedingten Fluss erhöht. Der Fluss lag in diesem Fall unter $1 \mu\text{l min}^{-1}$ pro Wurzel. Hier war die Salzkonzentration im Exsudat gegenüber der Konzentration bei rein osmotischer Exsudation nicht stark abgesenkt (vergl. Tabelle 19). Hohe Werte für den Volumenfluss wurden erst erreicht, wenn die applizierten Drücke im Bereich des osmotischen Druckes des Mediums (6,3 bar) lagen oder diesen überschritten. In diesen Fällen verdünnte sich der Xylemsaft stark und χ näherte sich im Bereich der stärksten Volumenflüsse asymptotisch dem Wert null.

2.2.2.8 Veränderungen des osmotischen Druckes und der Elektrolytkonzentration im aufsteigenden Xylemsaft der Halminternodien

Um die *in situ*-Konzentration von NaCl im Xylemsaft transpirierender Pflanzen am Brackwasserstandort zu untersuchen, wurde der Xylemsaft von basalen, medialen und apikalen Internodien bei trockenem Wetter um die Mittagszeit gesammelt (Tabelle 20).

Tabelle 20: Osmotischer Druck und Elektrolytkonzentration im Xylemsaft der Halminternodien des Schilfes von unterschiedlichen Brackwasserstandorten.

	Osmotischer Druck [bar]	Konzentration [mM]		
		Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻
Xylemsaft Kloster (n = 4)				
obere Internodien	1,1 ± 0,2	3 ± 1	7 ± 1	5 ± 1
mediale Internodien	1,3 ± 0,1	5 ± 1	8 ± 2	6 ± 1
basale Internodien	2,7 ± 0,6	23 ± 10	16 ± 10	23 ± 7
Meldorf (n = 1)				
mediale Internodien	2,9	6	1	10
basale Internodien	5,6	61	4	63
Typische Analyse des Wasser vom Standort				
Kloster	6,3	120	2,5	120
Meldorf	12,8	290	4,5	305

Mittelwerte ± Standardabweichung. n: Anzahl der Wiederholungen. Für jede Bestimmung wurde der vereinigte Xylemsaft von mindestens 10 Internodien verwendet.

In den basalen Internodien betrug die Konzentration von Na⁺ und Cl⁻ zwischen 20 und 30 % der Konzentration des Brackwassermediums. Die Konzentration von Na⁺ und Cl⁻ und der osmotische Druck des Xylemsaftes verringerten sich beim Aufstieg des Saftes im Halm deutlich. In den oberen Internodien wurden Werte erreicht, welche denen eines Süßwasserstandortes entsprachen (nicht gezeigt).

2.2.2.9 Elektrolytkonzentrationen und osmotischer Druck im Presssaft der Wurzeln und der Sprossorgane

Um den Beitrag von Na^+ und Cl^- am Turgordruck der verschiedenen Organe der Schilfpflanze zu untersuchen wurde die Konzentration dieser Ionen in Presssäften bestimmt. Im Gegensatz zu den wachsenden jungen Blättern und Rhizomknospen, welche viel K^+ aber wenig Na^+ enthielten, speicherten die Wurzeln und das Rhizom NaCl in osmotisch relevanter Konzentration (Tabelle 21).

Tabelle 21: Osmotischer Druck und Ionenkonzentration im Presssaft verschiedener Gewebe der Schilfpflanzen an einem Brackwasserstandort.

	Osmotischer Druck [bar]	Konzentration im Gewebe [mM]		
		Na^+	K^+	Cl^-
Obere Blattspreite ^a (n = 8)	19,9 ± 0,7	20 ± 3	309 ± 18	75 ± 21
Obere Blattscheide ^a (n = 7)	14,8 ± 2,6	19 ± 4	251 ± 33	99 ± 28
Rhizomknospe (n = 17)	9,9 ^b	14 ± 9	66 ± 7	42 ^b
Rhizom (n = 14)	13,6 ^b	40 ± 9	61 ± 15	109 ^b
Wurzel (n = 4)	9,8 ± 0,5	116 ± 17	83 ± 10	112 ± 3

Das Pflanzenmaterial wurde Ende Juni vom Standort Kloster entnommen (vergl. Tabelle 20 für Mediumkonzentration). Mittelwerte ± Standardabweichung. Für jede Bestimmung wurde der Presssaft von je 10 gesammelten Organen vereinigt. ^a Presssaft der jüngsten komplett entfalteten Blätter. ^b Der Presssaft wurde vor der Messung des osmotischen Druckes vereinigt, die Chloridbestimmung erfolgte nach der Bestimmung des osmotischen Druckes.

Im Spross war die Konzentration von Cl^- generell höher als die von Na^+ . Der osmotische Druck des Zellsaftes der submersen Organe war deutlich (3 - 6 bar) höher als der osmotische Druck des Mediums.

3 Diskussion

3.1 Radialtransport von Osmolyten und Wasser in abgetrennten Seitenwurzeln

Der axiale Fluss der Tuschepartikeln, welche einen Durchmesser von ca. $0,5 - 1 \mu\text{m}$ besitzen, in den radialen Xylemgefäßen der Feinwurzeln von Maispflanzen (Abbildung 6) und Schilfpflanzen (Abbildung 27) zeigt deutlich, dass diese Gefäße keine Tüpfelmembranen haben und es sich daher trotz ihres geringen Durchmessers (ca. $10 \mu\text{m}$) um Tracheen handelt.

Die Größenordnung des osmotisch getriebenen Axialflusses durch ein Xylemgefäß der Seitenwurzeln kann aus der Exsudationsgeschwindigkeit des Wurzelsystems einer 10 d alten Maispflanze ($15 - 30 \text{ nl s}^{-1}$), der Anzahl der Seitenwurzeln (ca. 50 bis 100) und der Anzahl der Gefäße pro Seitenwurzel (ca. 5) abgeschätzt werden. Sie lag danach zwischen $0,02 - 0,12 \text{ nl s}^{-1}$, dies entspricht einer Flussgeschwindigkeit von $0,3 \text{ bis } 1,5 \text{ mm s}^{-1}$. Nach dem Gesetz von Hagen-Poiseuille erzeugt eine laminare Strömung mit der Geschwindigkeit von $1,5 \text{ mm s}^{-1}$ durch eine $10 \mu\text{m}$ weite Röhre einen strömungsbedingten Druckgradienten von ca. 50 mbar cm^{-1} . Aus dieser Abschätzung folgt, dass der hydrostatische Druck in den Gefäßen einer ohne äußeren Druckgradienten exsudierenden Seitenwurzel der Maispflanze nur wenig über dem atmosphärischen Druck liegt; es sei denn, der Transfer zwischen den Gefäßen der Seitenwurzeln und denen der Hauptwurzel würde den Xylemsaftfluss stark behindern. Seit langem wird auf Grund der Arbeiten von Liese und Johann (1954) sowie Liese und Bauch (1964) angenommen, dass die Poren der Tüpfelmembranen sehr weit sind, was man durch Auflösung des Pektins erklären kann. Sie dürften daher nicht wesentlich zum Druckaufbau im Xylem der Seitenwurzeln beitragen. Allerdings behaupten Shane et al. (2000), dass beim Mais die Ausschlussgrenze der Tüpfelverbindungen zwischen den Seitenwurzeln und der Hauptwurzel unter 10 nm liegt. Dies ist, wie in Abschnitt 2.2.1.13 gezeigt wurde, ein Irrtum, der sich leicht dadurch erklärt, dass die Autoren nicht den Durchtritt der bei ihren Experimenten verwendeten Goldpartikeln durch die Tüpfelmembran untersuchten, sondern ihren Schluss allein aus deren Anwesenheit an den Tüpfeln ableiteten.

Die im Abschnitt 2.1.6, 2.1.7 dargestellten Methoden der Evans Blau-Färbung und der Verdrängung von Tusche-Partikeln erwiesen sich als geeignet, um die Richtung des Volumenflusses in den Xylemgefäßen der feinen Seitenwurzeln zu studieren. Die Selekt-

tivität der Färbung der Xylemwände mit Evans Blau beruht auf der nur geringen Diffusionsgeschwindigkeit des tetravalenten Farbstoff-Anions (Stokes Radius ca. 2,2 nm) in den Zellwänden der lebenden Xylemparenchymzellen. Die Färbung der Wurzel im Bereich der Schnittstelle zeigt, dass Evans Blau die Zellwände des kortikalen Parenchyms senkrecht zur Zellwandebene passiert, da der denaturierte Protoplast gefärbt wurde (Abbildung 7). Wird eine Wurzel in eine hypertonische Evans Blau-Lösung überführt, kommt es während des axialen Einstroms der hypertonischen Farbstofflösung in die Xylemgefäße, auf Grund des radialen Wasseraustritts und der anhaltenden Abgabe von gelösten Stoffen aus dem Symplasten in die Gefäße zu einer Erhöhung des osmotischen Druckes im Xylemsaft. Dies führt nach Erreichen der Isotonie zunächst zum Erliegen des axialen Einstromes. Auf Grund der anhaltenden Exkretion durch die Xylemparenchymzellen kann es anschließend zur Regeneration der ursprünglichen Flussrichtung kommen (Eaton, 1943; van Andel, 1953; Arisz et al., 1951, House und Findlay, 1966a). Die Evans Blau-Methode hält jedoch wegen der Beständigkeit der Färbung (Abbildung 7) die initiale Flussrichtung der Farbstofflösung und die maximale Eindringtiefe fest. Die Flussrichtung, welche unmittelbar nach dem Überführen der Wurzeln in die Testlösung (Tusche-Suspension und Evans Blau-Lösung) festgestellt wird, gestattet eine Aussage darüber, ob der Xylemsaft zu diesem Zeitpunkt hypertonisch oder hypotonisch zur Testlösung war. Mit der Tusche-Methode wurde der Ausstrom des Xylemsaftes erst nach ca. 5 min registriert. Der Befund zeigt daher nicht zweifelsfrei an, dass der Xylemsaft bereits bei der Überführung der Wurzel in die Testlösung hypertonisch gegenüber dem Medium war. In einem kleinen Teil der untersuchten Wurzeln könnte das beobachtete Austreten des Xylemsaftes auf der Erholung der Exsudation nach anfänglicher Flussumkehr beruhen. Bei der Tuschemethode war eine Zeitspanne von ca. 5 min notwendig, um die Wurzeln auf dem Objektträger zu arrangieren und den Anteil exsudierender Wurzeln zu bestimmen. Wenn es darum geht, die Flussrichtung unmittelbar nach dem Einbringen der Feinwurzeln in die Testlösung zu ermitteln, ist die Evans Blau-Methode daher der Tusche-Methode vorzuziehen.

Der kritische osmotische Druck einer Testlösung, welche isotonisch zum Xylemsaft ist, kann an einer einzelnen Seitenwurzel nicht erfasst werden, da während der hierzu durchzuführenden stufenweisen Variation des osmotischen Druckes im Medium eine Änderung der Xylemsaftkonzentration unvermeidlich wäre. Daher wurde durch Auszählen der Wurzeln mit gleicher Flussrichtung in Testlösungen mit unterschiedlichen osmotischen Drucken ein Medianwert für den kritischen osmotischen Druck des Mediums ermittelt (Abschnitt 2.2.1.3). Er ist der durch Interpolieren bestimmte osmotische Druck des

Mediums, der demgegenüber der Xylemsaft für eine Hälfte der untersuchten Wurzeln hypotonisch und die andere hypertonisch ist (Abbildung 9, Abbildung 10). Wird dieser Wert mit der Evans Blau-Methode bestimmt, entspricht er dem Median des osmotischen Druckes im Xylem der Seitenwurzeln einer Zufallsprobe zum Zeitpunkt ihrer Überführung in die Testmedien. Der große Wertebereich, in dem der osmotische Druck des Mediums zu seiner Bestimmung variiert werden musste, beweist, dass die einzelnen Seitenwurzeln im Zustand der Exsudation sehr unterschiedliche Werte des osmotischen Druck in ihrem Xylemsaft aufwiesen. Es ist daher davon auszugehen, dass die oben dargestellte Unsicherheit bei der Feststellung der anfänglichen Flussrichtung mit der Tusche-Methode keinen starken Einfluss auf die Bestimmung des Medianwertes hat. An vergleichbaren Wurzeln führten beide Methoden zu annähernd gleichen Ergebnissen (Abbildung 10). Für die Bestimmung des Medianwertes ist die Evans Blau-Methode jedoch nicht nur wegen ihrer Unabhängigkeit von der Inkubationsdauer im Testmedium, sondern auch aus praktischen Gründen der Tusche-Methode vorzuziehen. Sie ermöglicht die parallele Analyse einer großen Anzahl von Seitenwurzeln und das Ergebnis bleibt wegen der Irreversibilität der Färbung unbeeinflusst, wenn das Auszählen der Wurzeln mit gefärbten Gefäßen in zahlreichen Parallelproben längere Zeit beansprucht.

Die Tusche-Methode hat den Vorteil, dass die Xylemsaftflussrichtung wiederholt an ein und derselben Wurzel festgestellt werden kann. Die mit dieser Methode gefundene kontinuierliche Abnahme des Anteils exsudierender Wurzeln in Gegenwart von Mannitol beruht sicherlich auf nachlassender Exkretion von Osmolyten in das Xylem durch Absinken des *energy charge* der Wurzel. Sie trat bei Anwesenheit von Glucose im Inkubationsmedium nicht auf oder war im Vergleich zu der Variante mit isotonischer Mannitolkonzentration stark verlangsamt (Tabelle 5). Mannitol wird von Maispflanzen nicht schnell verstoffwechselt (vergl. Abschnitt 2.2.1.11), während Glucose eine für isolierte Maiswurzeln geeignete Kohlenstoffquelle für Atmung, Wachstum und Saccharosesynthese ist (Göring und Gerlach, 1966). Die beobachtete relativ schnelle Abnahme der Fähigkeit zur Xylemsaftabgabe an ein Mannitol-Medium mit erniedrigtem osmotischen Potenzial steht in Übereinstimmung mit früheren Befunden, wonach die Translokation von Kalium- bzw. Rubidiumionen aus der Wurzel in den Spross stark von der Saccharoseversorgung durch das Phloem abhängig war (Bowling et al., 1985).

Wenn es darauf ankommt, einen Medianwert zu bestimmen, der repräsentativ für den osmotischen Druck des Xylemsaftes in den Gefäßen der Seitenwurzeln zum Zeitpunkt ihrer Isolation ist, sollten die abgetrennten Feinwurzeln so kurz wie möglich in der für das

Wachstum der Pflanzen benutzten Nährlösung gehalten werden, bevor sie in das Testmedium überführt wurden, da sich nach dem Wegfall der Phloemversorgung durch Kohlenhydratmangel die Xylemsaftkonzentration erniedrigt. Diese Änderung verlief jedoch nicht sehr schnell, so dass bei Einhaltung einer Vorinkubationszeit von unter 20 min keine gravierenden Veränderungen des Medianwertes nach der Isolation der Wurzeln anzunehmen sind (Tabelle 5).

Da der vom Wurzelsystem ausgeschiedene Xylemsaft hauptsächlich in den Seitenwurzeln gebildet wird, sollte der osmotische Druck des an der Wurzelbasis gesammelten Xylemsaftes mit dem osmotischen Druck in den Seitenwurzeln korrelieren. Tatsächlich war dies der Fall (Tabelle 4). Erwartungsgemäß war der Median des osmotischen Druckes des Xylemsaftes in den isolierten Seitenwurzeln signifikant erhöht, wenn die untersuchten Pflanzen in einem Medium angezogen wurden, welches zusätzlich NaCl enthielt (Tabelle 2). Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung zu denen von Klepper (1967). Die Autorin fand, dass der osmotische Druck des Xylemsaftes signifikant erhöht war, wenn die Pflanzen über längere Zeit in einem Medium mit niedrigem Wasserpotenzial angezogen waren.

Dass bei allen untersuchten Wurzeln der Median des osmotischen Druckes in den Seitenwurzeln größer war als der osmotische Druck des an der Basis der Hauptwurzel gesammelten Xylemsaftes (Tabelle 4) muss nicht bedeuten, dass der Xylemsaft sich beim Aufstieg durch die Metaxylemgefäße der Hauptwurzel verdünnte. Eine Resorption der gelösten Stoffe beim Fluss durch Hauptwurzel ist bei den in dieser Arbeit durchgeführten Experimenten nicht wahrscheinlich, weil die untersuchten Wurzeln sich in dem Medium befanden, in dem die Pflanzen angezogen wurden (vergl. Klepper, 1967). Eine überzeugendere Erklärung für den gefundenen Unterschied ergibt sich aus der statistischen Bedeutung des Medianwertes und der schon erwähnten hohen Variabilität der Feinwurzeln hinsichtlich des osmotischen Druckes ihres Xylemsaftes. Im Fließgleichgewicht hängt der osmotische Druck des von einer Feinwurzel abgegebenen Xylemsaftes (π_x) sowohl vom Radialfluss der gelösten Stoffe in die Gefäße (J_s) als auch vom radialen Wasserfluss (J_v) ab

$$\pi_x = RT \frac{J_s}{J_v} \quad (\text{Gl. 9}).$$

Beide Flüsse können unabhängig voneinander variieren. Einflussfaktoren für J_s sind die Zusammensetzung des Mediums, die Aktivität von Ionenkanälen und Transportsystemen und die Versorgung des Symplasmas mit xylemmobilen Stoffen über das Phloem. Bei gegebener radialer osmotischer Triebkraft ($\pi_x - \pi_0$) kann J_v durch die Variabilität der hydraulischen Leitfähigkeit (L_P) unterschiedliche Werte annehmen

$$J_v = \sigma L_p (\pi_x - \pi_0) \quad (\text{Gl. 10}).$$

Durch die Kombination von Gleichung 9 und 10 ergibt sich Gleichung 11, der zufolge das Quadrat des osmotischen Druckes im Xylemsaft dem radialen Teilchenfluss in die Gefäße und dem Kehrwert der hydraulischen Leitfähigkeit proportional ist

$$\pi_x = \frac{RTJ_s}{\sigma L_p (\pi_x - \pi_0)},$$

$$\pi_x^2 = \frac{RTJ_s}{\sigma L_p} + \frac{\pi_0^2}{4} + \frac{\pi_0}{2} \quad (\text{Gl. 11}).$$

Gleichung 11 zeigt, dass sowohl die Variabilität von J_s als auch diejenige von L_p zu unterschiedlichen Werten von π_x führen kann. Wäre L_p in allen Wurzeln gleich, würden Seitenwurzeln mit einer Xylemsaftkonzentration über dem Medianwert stärker zum Volumenfluss beitragen als solche mit einer Xylemsaftkonzentration unter dem Medianwert und der osmotische Druck des Gesamtexsudates würde über dem Medianwert liegen. Dies war jedoch nicht der Fall. Wäre J_s in allen Seitenwurzeln gleich, würden Seitenwurzeln mit einem hohen Wert von L_p und dementsprechend stark verdünntem Xylemsaft stärker zum Gesamtfluss beitragen als solche mit hohem Wert von π_x . In diesem Fall hätte der durch Mischung entstehende Xylemsaft im Metaxylem der Hauptwurzel einen osmotischen Druck, der kleiner als der Medianwert des osmotischen Druckes in den Seitenwurzeln ist. Dies entspricht den Messwerten (Tabelle 4). Die Ergebnisse sprechen daher für eine starke Variabilität der hydraulischen Leitfähigkeit der einzelnen Seitenwurzeln.

Feinwurzeln der Schilfpflanzen von Brackwasserstandorten gaben im Brackwasser des Standortes oder in einer zum Brackwasser isotonischen Kochsalzlösung dauerhaft Xylemsaft ab (Abbildung 30). Auch eine weitere Erhöhung der NaCl-Konzentration unterdrückte die stelare Exsudation in einem großen Teil der Wurzeln nur vorübergehend. Wie in Tabelle 16 dargestellt, waren vergleichsweise niedrige osmotische Drucke der Testlösung ausreichend, um den Ausstrom von Xylemsaft dauerhaft zu verhindern, wenn als Osmolyt das Natriumsalz eines polyvalenten größeren Anions (Citrat) eingesetzt wurde. Das Ergebnis stützt die Hypothese einer im Vergleich zu Natriumcitrat hohen Permeabilität des Kortex für NaCl, bedeutet jedoch nicht, dass die Schilfwurzeln einen niedrigen Reflexionskoeffizienten für NaCl besitzen. Die im Fließgleichgewicht gefundene geringere hydraulische Wirksamkeit des NaCl kann darauf beruhen, dass die stationäre radiale Konzentrationsdifferenz des NaCl verringert war. Wegen des großen Verhältnisses zwischen der Oberfläche und dem Volumen der Xylemgefäße sind bereits kleine radiale Teilchenflüsse

ausreichend, um die NaCl-Konzentration in den Gefäßen bei geringen Werten von J_v anzuheben (vergl. Abbildung 34).

Da die Evans Blau-Methode die initiale Flussrichtung des Xylemsaftes in Testlösungen definierten osmotischen Druckes erfasst, ist sie geeignet, die hydraulische Wirksamkeit einer radialen osmotischen Differenz für unterschiedliche Osmolyte zu vergleichen. Die an den isolierten Mais-Seitenwurzeln beobachtete Unabhängigkeit des Medians des osmotischen Druckes des Xylemsaftes von der Molmasse der verwendeten Osmolyten (vergl. Tabelle 3) ist nicht mit der Annahme vereinbar, dass der radiale Wurzelreflexionskoeffizient der Maiswurzeln für NaCl deutlich von eins abweicht. Würde ein apoplastischer Nebenweg (*bypass*) durch die Endodermis einen im Vergleich zum Gesamtfluss merklichen radialen *solvent drag* von NaCl und Mannitol ermöglichen, müssten, wie in der Einleitung dargelegt wurde, diese Osmolyte hydraulisch weit weniger wirksam sein als die kaum oder nicht permeierenden Osmolyte PEG 600 und Dextran 8. Eine vergleichbare Argumentation gegen das Vorliegen einer unselektiven Strömung auf dem Zellwandweg wurde bereits von Michael et al. (1997) gegeben. Die Autoren zeigten, dass die Größe der osmotisch bedingten Strömung durch lebendes Parenchymgewebe des Kartoffelmarks unabhängig von der apoplastischen Permeation der Osmolyte war.

3.2 Mechanismus osmotisch bedingter Volumenflüsse in den infiltrierten Interzellularräumen des Kortex

Bei den in Hydroponik kultivierten Maiswurzeln lag ein durchgehendes und pneumatisch zusammenhängendes System ausschließlich luftgefüllter Interzellularräume im Kortex vor, welches von der Hauptwurzel in alle Nebenwurzeln reichte. Es erlaubte bei der Anwendung von Gas-Überdruck am Kortex der Hauptwurzel den Austritt von Gasblasen aus dem Kortex von Seitenwurzeln mit abgeschnittener Spitze. Dagegen waren die feinen Seitenwurzeln der halmbürtigen, in das Freiwasser reichenden Adventivwurzeln des Schilfes überwiegend durch flüssigkeitsgefüllte kortikale Interzellularräume gekennzeichnet (vergl. Abschnitt 2.2.2.1). Michael et al. (1999) zeigten, dass die Luftfüllung der Interzellularräume in Maiswurzeln durch Kapillardepression an ihren hydrophob ausgekleideten Oberflächen erzwungen wird. Die Infiltration des kortikalen Luftraumes erforderte eine relativ hohe hydrostatische Druckdifferenz oder die Überführung der Wurzeln aus einer relativ konzentrierten Mannitol- oder Salzlösung in eine stark verdünnte Lösung.

Das Vorkommen von sehr feinen Seitenwurzeln mit flüssigkeitsgefüllten Interzellularkanälen war beim Schilf auf die im Freiwasser (Abbildung 25) und in den oberen oxischen Horizonten des Sedimentes gebildeten halmbürtigen Adventivwurzeln begrenzt. Sauerstoff ist dort, wo die reich verzweigten Adventivwurzeln mit den feinen Seitenwurzeln vorkommen, stets vorhanden. Bei Vorliegen eines dichten Wurzelfilzes in den oberen Sedimentschichten wird er aus den Hauptachsen und dickeren Nebenachsen in die interstitielle Flüssigkeit abgegeben (Armstrong und Armstrong, 1988; Armstrong et al., 1992; Wiessner et al., 2002). Flüssigkeitsgefüllte Interzellularkanäle kamen nicht nur beim Schilf, sondern auch bei feinen Seitenwurzeln der Adventivwurzeln anderer Heliophyten aus der Familie der Poaceen vor, wenn diese Wurzeln im Freiwasser oder im oberflächennahen Sediment wuchsen (Abbildung 31). Es wäre daher interessant, die ökologische Bedeutung dieses Phänomens näher zu untersuchen.

Das Einsaugen der Evans Blau-Lösung in die flüssigkeitsgefüllten Interzellularkanäle der Seitenwurzeln sowie die Fähigkeit zur dauerhaften Exsudation aus diesem Kompartiment zeigen, dass die Epidermis/Hypodermis-Barriere als permselektive Barriere mit hoher Wasserdurchlässigkeit wirkt. Bei artifiziell infiltrierten feinen Seitenwurzeln der Maispflanzen konnte im Unterschied zu denen der Schilf-Adventivwurzeln der Volumenfluss aus den kortikalen Interzellularen nach dem Wechsel in ein Medium mit einem gegenüber dem Infiltrationsmedium geringeren osmotischen Druck nur kurzfristig beobachtet werden. Dass er bei den Feinwurzeln des Schilfes auch im Kultur- oder Standortmedium stattfand und hier längere Zeit andauerte, deutet auf eine endogene Quelle für osmotisch wirksame Stoffe, die ständig an den kortikalen Apoplasten abgegeben werden, hin. Ob die für den Exsudationsvorgang erforderlichen Osmolyte dem Symplasten oder dem stelaren Apoplasten entstammen, wurde noch nicht untersucht. Für die Annahme eines diffusiven Teilchenflusses vom stelaren in den kortikalen Apoplasten spricht die in dieser Arbeit (Abschnitt 2.2.2.5, 2.2.2.6) festgestellte Permeabilität der Endodermis für die Diffusion von Ionen und Nichteletrolyten. Die Differenz des osmotischen Druckes zwischen dem kortikalen Apoplasten und dem Medium kann die Flüssigkeitsfüllung der Interzellularräume bewirken bzw. die Gasfüllung der Interzellularräume erschweren (vergl. Michael et al., 1999).

Die in Tabelle 16 dargestellten Ergebnisse können dadurch erklärt werden, dass die äußeren Abschlussgewebe des Kortex für NaCl permeabler als für Natriumcitrat sind. Nach dem Überführen der Wurzeln aus dem Brackwasser (π_0 ca. 6,3 bar) in eine hypotonische Lösung von Natriumcitrat ($\pi_0 = 3,6$ bar) kam der Volumenfluss aus dem Kortex im Verlauf

von 10 min zum Erliegen, nachdem er zuvor im Brackwasser gut nachweisbar war. Dies könnte daran liegen, dass die Osmolyte, welche in den kortikalen Apoplasten aus dem Symplasten oder dem stelaren Apoplasten gelangten, schneller als das Citrat durch die Hypodermis/Epidermis-Barriere permeierten, weshalb ihre Konzentrationsdifferenz die osmotische Differenz des osmotischen Partialdruckes des Citrats nicht kompensierte. Andererseits könnte die Konzentration der nativen Osmolyte des kortikalen Apoplasten durch ihre Reabsorption in den Symplasten begrenzt werden. Um die Exsudation aus dem Kortex osmotisch zu verhindern, musste NaCl in einer Konzentration weit über derjenigen des ursprünglichen Brackwasser-Mediums eingesetzt werden. Dies spricht wie weitere Ergebnisse (Abschnitt 2.2.2.2, 2.2.2.5, 2.2.2.6 und 2.2.2.7) dafür, dass NaCl im Vergleich zu anderen endogenen Osmolyten, die sich im kortikalen Apoplasten befanden, relativ schnell durch die äußeren Abschlussgewebe permeierte, so dass nur geringe Konzentrationsdifferenzen für NaCl zwischen dem Medium und dem kortikalen Apoplasten auftraten.

Es ist wichtig im Zusammenhang mit den axialen Volumenflüssen durch die kortikalen Interzellularkanäle darauf hinzuweisen, dass dieses Phänomen keineswegs beweist, dass die apoplastische Flüssigkeit in den Interzellularkanälen auch *in situ* strömt. Die beobachtete Strömung erfordert die Öffnung des Kortex durch die Schnittverletzung. Eine Strömung *in situ* würde erfordern, dass axiale Wasserpotenzialgradienten zwischen der apikalen und der basalen Region im Kortex aufrechterhalten werden, wofür es vorerst noch keine Beweise gibt.

3.3 Interpretation des Zeitverlaufes des radialen Volumenflusses nach der Änderung der radialen Wasserpotenzialdifferenz

Der methodische Vorteil des in der vorliegenden Arbeit genutzten Fluss-Sensors besteht in einer hohen zeitlichen Auflösung bei gleichzeitig hoher Empfindlichkeit, der Möglichkeit zur Erfassung beider Flussrichtungen und der Abwesenheit eines durch die Messapparatur erzeugten strömungsbedingten Gegendruckes. Die starke initiale Änderung der Exsudationsgeschwindigkeit nach dem Anlegen von hydrostatischen radialen Druckgradienten (Abbildung 12, Abbildung 13) wurde bisher nur in wenigen Studien beschrieben, ohne jedoch darauf einzugehen, dass sich bei ihrem Abklingen bis zum stationären Fluss im neuen *steady state* zwei Phasen unterscheiden lassen. Mees und Weatherley (1957) untersuchten den Verlauf des axialen Xylemsaftflusses in Tomatenpflanzen nach der Applikation

relativ großer Druckgradienten mit Hilfe der Scholanderkammer. Obwohl durch diese Autoren der Fluss in relativ großen Zeitintervallen (30 s) bestimmt wurde, war die Initialänderung wesentlich stärker als die nach 10 min erreichte permanente Änderung. Die genannten Autoren betrachteten den stationären Fluss als relevant für die Bestimmung der Wasserpermeabilität der Wurzel. Zhu et al. (1986) benutzten einen *micro-drop*-Rekorder mit einer Empfindlichkeit von 10 nl pro Zeiteinheit. Sie fanden, dass das Maximum der hydrostatisch bedingten Flussänderung sich praktisch verzögerungsfrei einstellte, wie es auch mit dem in dieser Arbeit verwendeten Fluss-Sensor gefunden wurde. Ihre Messapparatur hatte eine hohe Zeitauflösung, konnte jedoch Flüsse in umgekehrter Richtung nicht erfassen. Magnani et al. (1996) bestimmten den Xylemsaftfluss an Hand des Druckabfalls über einem Strömungswiderstand, was den Nachteil hat, dass die applizierte Druckdifferenz durch den Gegendruck der Messapparatur verändert wird. Sie interpretierten die schnell abklingende initiale Flussänderung als eine elastische Volumenänderung von Wurzelkompartimenten, die noch keinen Radialtransport des Wassers zwischen dem Medium und den Gefäßen widerspiegelt.

Die initiale Flussänderung nach Applikation der hydrostatischen Druckdifferenz ließ sich als Summe zweier Exponentialfunktionen mit deutlich unterschiedlichen Zerfallskonstanten und Amplituden beschreiben (Abbildung 13, Tabelle 6). Die Kontrollexperimente zeigten (Abbildung 12), dass die ohne Verzögerung messbare starke Änderung des Volumenflusses nicht auf der Elastizität der Messapparatur beruht. Die gefundene Erhöhung der Amplitude des oszillierenden Flusses bei Erhöhung der Frequenz der Druckoszillation (Abbildung 15) lässt sich mit dem schnellen Abklingen der initialen Flussänderung erklären.

Das anfängliche Maximum der Volumenflussänderung nach Druckänderung beruht zweifellos auf der elastischen Volumenänderung des vaskulären Systems. Nur hierdurch werden die Ergebnisse der Kontrollexperimente mit dem Kapillarwiderstand, die ungedämpfte Oszillationen des Xylemsaftflusses und die Kinetik des Abklingens der maximalen Flussänderung verständlich. Die in Abbildung 14 präsentierten Ergebnisse zeigen, dass die druckbedingte elastische Volumenänderung, die zur initialen Flussänderung führt, vor allem die Gefäße der Hauptachse der Wurzel betrifft. Im verzweigten Bereich der Hauptwurzel wird das Gefäßvolumen durch die großen Metaxylemgefäße bestimmt. Ihr axialer Flusswiderstand ist sehr gering und ihr Volumen wurde direkt an den Fluss-Sensor angeschlossen. Daher wird ihre elastische Erweiterung oder Verengung ohne Verzögerung registriert. Das Volumen der reifen Metaxylemgefäße der Hauptwurzel entspricht ca. 4 % des Volumens des Wurzelsystems junger Maispflanzen (Miller, 1981). Das Integral der

Zeitfunktion des Volumenflusses, dass der Initialphase zugeordnet werden kann, ergab im Mittel ein Volumen von ca. 120 nl in den untersuchten Wurzeln (Tabelle 6). Dies entsprach 0,2 bis 0,3 % des Volumens der reifen Metaxylemgefäße in der verzweigten Hauptachse. Es genügt daher eine relativ geringe Deformation der Gefäße, um die Kinetik der anfänglichen druckinduzierten Reaktion des Xylemsaftflusses zu erklären.

Die mit der Wurzeldrucksonde registrierte „elastische Phase“ der Druckrelaxation (Frensch und Hsiao, 1993), war noch schneller beendet als die hier dargestellte Initialphase der druckbedingten Flussänderung. Der Unterschied lässt sich mit dem Altersunterschied der verwendeten Wurzeln erklären. In den unverzweigten apikalen Abschnitten der von Frensch und Hsiao (1993) untersuchten Maiskeimwurzel ist das großlumige späte Metaxylem noch nicht funktionsfähig. Außerdem bewirkt der hydrostatische Druck in den Gefäßen, welcher bei der Messung mit der Wurzeldrucksonde auftritt, vermutlich eine Verminderung ihrer elastischen Volumenkapazität.

Das anschließende langsame Abklingen der Flussänderung bis zum Wert des neuen Fließgleichgewichtes dauerte etwa genauso lange wie der Übergang von der maximalen bis zur stationären Flussänderung nach der Änderung des osmotischen Druckes im Medium (vergl. Tabelle 6 und Tabelle 7). Diese zweite Phase fehlte in der Übergangskinetik, wenn die Druckapplikation nach Entfernung der Seitenwurzeln und dem Verschluss der entstandenen Schnittstellen durchgeführt wurde (Abbildung 14). Sie hat daher ihren Ursprung in den feinen Seitenwurzeln, in welchen der größte Teil des radialen Wasserflusses stattfindet.

Eine passive Veränderung des osmotischen Druckes auf Grund des veränderten radialen Wasserflusses muss bei der hydrostatisch bedingten Flussänderung ebenso erwartet werden wie bei der osmotisch bedingten Flussänderung. Da der langsame Prozess mit der Einstellung eines neuen stationären Fließgleichgewichts einhergeht, ist er zweifellos mit der Konzentrationsänderung des Xylemsaftes in den Feinwurzeln verbunden.

Die Änderung der Flussgeschwindigkeit nach Zumischung des Osmolyten zum Medium erreichte ihren Maximal- oder Endwert mit einer geringen, aber mit dem Fluss-Sensor noch gut auflösbaren Verzögerung (Abbildung 16). Dies liegt zweifellos daran, dass die Diffusion des Osmolyten durch den ungerührten Oberflächenfilm und den kortikalen „Freien Raum“ selbst in einem gerührten Medium eine kurze Zeit benötigt; denn erst im Diffusionsgleichgewicht zwischen kortikalen Apoplasten und dem Medium wird die volle Konzentrationsdifferenz des Osmolyten zwischen dem extraplasmatischen Raum des Kortex und den Xylemgefäßen erreicht. Zu der Zeitverzögerung könnte auch der Zeitbedarf für die Einstellung des neuen radialen Wasserpotenzialgradienten in der Wurzel beitragen. Wegen

des hohen Wertes für den Volumenelastizitätsmodul des Wurzelgewebes (Abschnitt 2.2.1.14) ist davon auszugehen, dass der Effekt der elastischen Volumenkapazität des Kortextgewebes auf den gemessenen Volumenfluss gering war. Von Zhu et al. (1986) wurde berichtet, dass sowohl der Beginn der Änderung der Exsudationsgeschwindigkeit als auch der maximale Effekt bei Verwendung von Osmolyten geringer Molmasse (NaCl) schneller erreicht war als bei der Verwendung von Osmolyten höherer Molmasse (PEG 600). Diese Beobachtung lässt sich durch die Abhängigkeit der Diffusionsgeschwindigkeit von der Teilchengröße und durch die Abhängigkeit der Dicke der ungerührten Schicht an der Wurzeloberfläche von der Viskosität erklären. Die in Abbildung 32 dargestellten Ergebnisse beweisen die Richtigkeit dieser Deutung. Die vorübergehende kurzfristige Induktion eines starken radialen Wassereinstromes nach dem isotonischen Wechsel vom Brackwassermedium zu einem isotonischen Gemisch von Brackwasser mit einem PEG 600-Medium erklärt sich aus einer vorübergehenden Abnahme des osmotischen Druckes an der absorbierenden Oberfläche des Kortex. Sie beruht darauf, dass PEG 600 in im ungerührten Oberflächenfilm und im „apoplastischen Freien Raum“ der Wurzel langsamer diffundiert als NaCl. In ähnlicher Weise können die beim isotonischen Wechsel des PEG-haltigen Brackwassermediums mit dem reinen Brackwassermedium beobachteten kurzfristig auftretenden Flusshemmungen bzw. der Flussrichtungswechsel erklärt werden.

In allen Fällen wurde die Maximaländerung innerhalb von 25 s erreicht, dies entspricht dem Zeitintervall, das für die Einstellung der maximalen Flussänderung nach Zugabe eines Osmolyten benötigt wurde. Diese Zeitspanne ist kürzer als die Halbwertszeit des diffusiven Austausches niedermolekularer Osmolyte (Fleischer und Ehwald, 1995) mit dem „apoplastischen Freien Raum“. Nach Zusatz eines Osmolyten wurde daher die maximale Änderung der Exsudationsrate bereits erreicht, wenn der Osmolyt zwar mit dem Oberflächenfilm, jedoch noch nicht den „apoplastischen Freien Raum“ des Kortex im Diffusionsgleichgewicht stand. In der Tat lässt Abbildung 32 erkennen, dass das Diffusionsgleichgewicht mit dem Freien Raum erst nach zwei bis drei Minuten erreicht wird. Das Maximum der initialen Flusshemmung nach Erhöhung des osmotischen Druckes im Medium (z.B. Abbildung 16) beruht daher offensichtlich auf der zeitlichen Überlagerung des Konzentrationsanstieges des Osmolyten an den Plasmamembranen mit dem passiven Anstieg der Xylemsaftkonzentration, die aus der Flusshemmung resultiert.

Die Kinetik des Volumenflusses beim Übergang von einem Fließgleichgewicht zum anderen nach einer starken osmotisch hervorgerufenen Flusshemmung oder der vorübergehenden Flussumkehr wurde an Wurzelsystemen dekapitierter Tomatenpflanzen, von Arisz

et al. (1951) und van Andel (1953) bereits in vielen Details beschrieben. Von diesen Autoren wurden wesentliche Komponenten der von Diamond und Bossert (1967) ausgearbeiteten Theorie des stationären osmotischen Gradienten (*standing osmotic gradient*) beim Volumenfluss durch die Interzellularkanäle tierischer Epithelien erkannt. Sie interpretierten das anfängliche Maximum der Hemmung und die anschließende Erholung des Xylemsaftflusses bis zur Einstellung eines neuen Fließgleichgewichtes (vergl. Abbildung 16) mit einer passiven Erhöhung des osmotischen Druckes in den Xylemgefäßen. Bei reduziertem radialem Wasserfluss und anhaltendem radialem Teilchenfluss in die Gefäße steigt der osmotische Druck des Xylemsaftes bis zum Wert des neuen Fließgleichgewichtes. Sowohl die Absolutwerte der maximalen Flusshemmung, als auch das Verhältnis der maximalen zur permanenten Änderung der Exsudationsgeschwindigkeit, waren in der Studie von Arisz et al. (1951) nach annähernd isomolarer Zugabe von Raffinose, Mannitol und Thioharnstoff gleich. Die Autoren schlossen daraus, dass der Effekt der radialen Permeabilität der genannten Osmolyte vernachlässigbar war.

In den zitierten älteren Arbeiten wurde der Xylemsaftfluss anfänglich sehr stark gehemmt oder seine Richtung vorübergehend umgekehrt. Bei solchen Veränderungen, die Änderungen des osmotischen Druckes des Mediums von über 0,5 bar erfordern, wird bis Einstellung des neuen Fließgleichgewichtes auch an den hier untersuchten Mais- und Schilfwurzeln eine relativ lange Zeit benötigt. In dieser Arbeit konnte die Übergangskinetik bis zum neuen Fließgleichgewicht mit hoher Zeitauflösung und Genauigkeit erfasst werden. Dies ermöglichte es, die osmotische Hemmung nach relativ kleiner Erhöhung des äußeren osmotischen Druckes ($\Delta\pi_0$) zu untersuchen. Erfolgt die Experimente im Hoagland-Medium, in welchem die Maiswurzeln mit hoher Rate exsudierten, war ein initiales Maximum der Wirkung in der Mehrzahl der Fälle zwar noch erkennbar, der anschließende Anstieg zum stationären Wert benötigte aber nur kurze Zeit und war meist sehr viel geringer als der Betrag der permanente Hemmung. Zeitbedarf und Ausmaß der passiven Erhöhung des osmotischen Druckes in den Xylemgefäßen, sollten bei einem schwachen Volumenfluss und bei hoher Xylemsaftkonzentration höher sein als bei starkem Volumenfluss und einer geringen Xylemsaftkonzentration. In Übereinstimmung mit dieser Annahme wurde in Medien mit hoher Salzkonzentration bzw. hohem osmotischem Druck, in denen die anfängliche Exsudationsgeschwindigkeit bereits deutlich reduziert war, ein ausgeprägtes initiales Maximum der osmotisch bedingten Hemmung festgestellt (Abbildung 16, Tabelle 7), auch wenn ein unpermeabler Osmolyt (PEG 600) in geringer Konzentration dem Medium hinzugefügt wurde. Bei stärkeren Volumenflüssen, welche in stark verdünnten

Elektrolytmedien gemessen wurden, war der Unterschied zwischen der maximalen und der permanenten Flussänderung nach Zugabe des Osmolyten meist kaum noch feststellbar. Dies spricht dafür, dass die passive Änderung der Xylemsaftkonzentration so schnell erfolgte, dass ihr Zeitverlauf sich mit dem der Mischungs- und Diffusionskinetik im „Freien Raum“ der Wurzeln überlagerte. Wurde der in einem stark hypotonischen Medium registrierte Xylemsaftfluss durch relativ kleine Änderungen des osmotischen Druckes modifiziert, stellte sich ein neues Fließgleichgewicht bereits 20 bis 30 s nach Zugabe des Osmolyten ein.

Der Absolutwert der initialen Maximaländerung des Volumenflusses war in verdünnten Medien deutlich größer als in Medien mit einem hohen Salzgehalt bzw. hohem osmotischem Druck (Tabelle 7). Ein vergleichbarer Effekt wurde bereits von Arisz et al. (1951) gefunden und mit einer größeren hydraulischen Leitfähigkeit der Wurzel in verdünnten Medien im Vergleich zum Hoagland-Medium interpretiert. Hierfür ist aber, wie weiter unten ausgeführt wird, vermutlich eine andere Ursache ausschlaggebend, nämlich die Abhängigkeit der passiven Erhöhung der Xylemsaftkonzentration. Arisz et al. (1951) nahmen an, dass während des initialen Maximums der osmotisch bedingten Flusshemmung die radiale osmotische Druckdifferenz nur wenig kleiner war als die Änderung des osmotischen Druckes im äußeren Medium. Dies kann allerdings bei der in den Ergebnissen beschriebenen schnellen Einstellung des neuen Fließgleichgewichtes bei einer kleinen Relativänderung der Exsudationsgeschwindigkeit nicht zutreffen. Bei hohem Wasserpotenzial des Mediums verlief die passive Erhöhung des osmotischen Druckes des Xylemsaftes so schnell, dass die erste Phase der Flussänderung, die durch die Sättigung des Oberflächenfilmes und des „apoplastischen Freien Raumes“ begrenzt wird, nicht gut von der zweiten Phase, in der die Xylemsaftkonzentration bis zum stationären Wert steigt getrennt werden konnte.

Die Ähnlichkeit der hydraulischen Effizienz von Osmolyten mit sehr unterschiedlicher Permeabilität bei der initialen Flussänderung (Tabelle 8) ist nur damit zu erklären, dass ihre radialen Ultrafilterkoeffizienten sehr ähnlich sind. Dies spricht dafür, dass sich ihre Reflexionskoeffizienten, wie es von Plasmamembranen bekannt ist, nur wenig vom Wert eins unterscheiden. Wie in der Einleitung bereits erläutert, bedeutet ein Reflexionskoeffizient mit einem Wert von annähernd eins keineswegs, dass der Kortex mit seinen äußeren und inneren Abschlussgeweben für die Osmolyte unpermeabel ist. Er zeigt nur, dass der Ultrafilterkoeffizient nicht von der Permeation der Teilchen abhängt, oder anders formuliert, dass der Volumenfluss einen anderen Weg durch die Membran nimmt als der Teilchenfluss. Im Fließgleichgewicht, wenn die Flusshemmung durch einen Osmolyten,

konstant ist, stellt sich ein Verhältnis zwischen der Konzentration des Osmolyten und der Konzentration des Mediums ein, das dem Quotienten aus dem Permeabilitätskoeffizienten des Osmolyten und dem Volumenfluss entspricht. Die sehr ähnlichen Werte für die permanente Hemmung des Flusses durch Salze, Mannitol und PEG 600 bei starkem Wasserfluss lassen sich so deuten, dass die radialen Permeabilitätskoeffizienten der Wurzel für jeden der genannten Osmolyte weit geringer waren als der radiale Volumenfluss. Daher erreichten diese Osmolyte im *steady state* bei hohem Volumenfluss nur eine gegenüber der Konzentration des Mediums sehr kleine Konzentration im Xylemsaft. Da die permanente osmotische Hemmung durch Methanol und Ethanol weit weniger als die Hälfte derjenigen betrug, welche durch NaCl, Mannitol und PEG 600 in isotonischer Konzentration zustande kam, war der Permeabilitätskoeffizient der Feinwurzeln für Methanol und Ethanol weit größer als der radiale Volumenfluss, bei dem die Hemmung gemessen wurde. Im Mittel lag die permanente Hemmung für Methanol unter 20 %, die für Ethanol unter einem Drittel der permanenten Hemmung durch isotonische Lösungen von Mannitol und NaCl (Tabelle 8). Da die initiale Hemmung der Alkohole nur graduell geringer war als die der vorgenannten größeren Osmolyte, ist die geringe permanente Hemmung dieser Substanzen nur durch ihre hohe Permeabilität zu erklären.

Die Reflexionskoeffizienten für Ethanol und Methanol könnten theoretisch durch Vergleich ihrer initialen hydraulischen Wirksamkeit mit der initialen hydraulischen Wirksamkeit von Mannitol in isotonischer Konzentration ermittelt werden (Tabelle 8). Der Reflexionskoeffizient eines Osmolyten mit hoher Permeabilität wie Ethanol und Methanol kann jedoch leicht dadurch unterschätzt werden, dass es während des Messzeitraumes zu einer permeationsbedingten Konzentrationserhöhung in den Gefäßen kommt. Bei der in dieser Arbeit verwendeten Technik gibt es keine signifikante messtechnische Verzögerung. Vorteilhaft ist bei dieser Methode auch, dass die unvermeidliche Verzögerung durch den Zeitbedarf der Äquilibration des „Freien Raumes“ einschätzbar ist. Wegen der schnellen permeationsbedingten Verstärkung des Xylemsaftflusses ist davon auszugehen, dass bereits während der ersten 10 bis 15 Sekunden, die von der Zugabe des Osmolyten bis zur maximalen Hemmung vergehen, die radiale Konzentrationsdifferenz der Alkohole abgenommen hat. Dies sollte dazu führen, dass sich die diffusionsbedingt verzögerte „Wasserphase“ (*water phase*) mit der gegenläufigen Phase des Konzentrationsausgleiches des Osmolyten (*solute phase*) überlagert, wodurch die hydraulische Wirkung des initialen Konzentrationsgradienten unterschätzt wird. Trotz dieser Unsicherheiten unterstreichen die in Abbildung 17 und Tabelle 8 dargestellten Ergebnisse, dass Methanol und Ethanol

überwiegend auf einem anderen Weg als Wasser bzw. unabhängig von dessen protoplastischem Strömungsweg durch den Kortex permeieren. Die starke hydraulische Initialwirkung der hochpermeablen Nichtelektrolyte könnte so interpretiert werden, dass für ihren Radialtransport andere Mechanismen des Membrantransportes wirksam sind als für den radialen Volumenfluss des Wassers. Würde die Permeation der Alkohole durch die gleichen Plasmamembran-Aquaporine (MIPs) wie die Permeation der Wassermoleküle katalysiert, sollte man Reflexionskoeffizienten weit unter eins erwarten.

3.4 Ungefilterte Volumenflüsse an der Basis feiner Seitenwurzeln

Miller (1987) berichtete, dass Wurzelsysteme von Mais, welche kurzzeitig aus dem hydroponischen Anzuchtmedium herausgehoben wurden, anschließend nicht mehr den maximalen Wurzeldruck erreichten und eine verringerte Exsudationsgeschwindigkeit zeigten. Dies wurde als unvermeidliche mechanische Beschädigung durch Knickverletzung an den Seitenwurzeln der hydroponisch angezogenen Pflanze gedeutet. In der vorliegenden Arbeit wurde diese Sichtweise bestätigt, wobei die lokale Beschädigung der Permeationsbarriere an der Basis der Feinwurzeln sichtbar gemacht wurde (Abbildung 5). Durch das Herausnehmen der Maiswurzeln aus dem Medium kommt es zu einem Abknicken einiger Seitenwurzeln, da in der Atmosphäre die unterstützende Wirkung des Auftriebs des Mediums fehlt und die Seitenwurzeln an der Luft beim Abtropfen des Flüssigmediums kohäsiv aneinander haften. Dies führt bei anschließender Anwendung einer hydrostatischen Druckdifferenz zu einer Erhöhung der Effizienz der hydraulischen Wirkung durch den zusätzlich geschaffenen widerstandsarmen unselektiven Nebenweg. Wie aus den Ergebnissen deutlich wird, muss dieser artifizielle Nebenweg vermieden werden, wenn der radiale Reflexionskoeffizient einer verzweigten Wurzel für einen Osmolyten bestimmt wird. Bei den halmbürtigen Adventivwurzeln des Schilfes vom Brackwasserstandort, wo die Verletzungen der Feinwurzeln vermutlich nicht nur artifiziell waren, sondern auch auf der Aktivität von Herbivoren beruhten, wurde bei starkem hydrostatisch erzwungenen Volumenfluss eine Verstopfung der zusätzlichen Strömungswege festgestellt. Sie wurde durch die Abschwächung des Volumenflusses und die gleichzeitige Abdichtung des Xylems gegenüber dem Medium zugesetzte Farbstoffe erkennbar. Im Boden oder im natürlichen Substrat werden verletzte Feinwurzeln auf Grund der Verstopfung der Tüpfelmembranen

zwischen den Gefäßen der Hauptwurzel und der Lateralwurzel mit Kolloiden und Trübstoffen vermutlich sehr schnell hydraulisch unwirksam.

Bereits Peterson et al. (1981) und Steudle (1993) haben das Vorhandensein von apoplastischen Strömungswegen an der Basis von Seitenwurzeln diskutiert. Diese Autoren nahmen jedoch an, dass der apoplastische Umgehungsweg (*apoplastic bypath*) an dieser Stelle unvermeidlich sei, weil er angeblich beim Durchwachsen der Seitenwurzeln durch den Kortex entsteht. Aus Abbildung 5 wird erkennbar, dass der Farbstoff stets nur außerhalb der Epidermis der Hauptwurzel aus den Seitenwurzeln austrat. Da dies nur an wenigen, offenbar durch Abknicken mechanisch verletzten Feinwurzeln beobachtet wurde, muss diese Interpretation für die untersuchten Maiswurzeln abgelehnt werden. Ähnliches gilt für Reiswurzeln. Hier korrelierte der Radialtransport von 3-Hydroxy-5,8,10-Pyrenetrisulfonat (PTS), eines Farbstoffes mit überwiegend apoplastischer Mobilität, nicht mit dem Auftreten von Seitenwurzeln (Faiyue et al., 2010).

3.5 Hydraulische Wirksamkeit der osmotischen und hydrostatischen Komponenten der radialen Wasserpotenzialdifferenz am unverletzten Kortex

Im *steady state* des Volumenflusses ($J_v = konst.$) durch eine Wurzel gilt, dass die Teilchenkonzentration im Xylemsaft (C_x) dem Verhältnis zwischen dem Teilchenfluss in die Gefäße (J_s) und dem radialen Volumenfluss entspricht und einen konstanten Wert annimmt. Sind die experimentellen Änderungen des äußeren hydrostatischen oder osmotischen Druckes (Δp oder $\Delta \pi$) im Verhältnis zum osmotischen Druck des Xylemsaftes (π_x) klein, gilt daher näherungsweise $J_v \pi_x = konst.$ Hieraus folgt bei kleinen Relativänderungen beider Größen, dass die Änderung des osmotischen Druckes im Xylemsaft der Flussänderung proportional ist ($\Delta \pi_x = -k \Delta J_v$).

Dann ergibt sich für die druckbedingte permanente Flussänderung

$$\Delta J_{vp} = L_p (\Delta p - k \Delta J_{vp}) \quad (\text{Gl. 12}),$$

$$L_p = \frac{\Delta J_{vp}}{\Delta p (1 - k)} \quad (\text{Gl. 13}),$$

und für die osmotisch bedingte permanente Flussänderung,

$$\Delta J_{v\pi} = -L_{pD} (\Delta \pi - k \Delta J_{v\pi}) \quad (\text{Gl. 14}),$$

$$L_{PD} = \frac{\Delta J_{v\pi}}{\Delta\pi(1-k)} \quad (\text{Gl. 15}).$$

Da der Reflexionskoeffizient σ als Verhältnis zwischen $-L_{PD}$ und L_P definiert ist (vergl. Abschnitt 1.1.5), folgt für kleine Relativänderungen der Exsudationsgeschwindigkeit

$$\sigma_r = -\frac{L_{PD}}{L_P} = \frac{\Delta J_{v\pi} \Delta p}{\Delta J_{vP} \Delta\pi} \quad (\text{Gl. 16}).$$

In Abschnitt 2.2.1.5 (Abbildung 11) wird deutlich, dass σ_r von Maiswurzelsystemen nur dann annähernd den Wert eins erreichte, wenn die Leckbildung an der Basis der Seitenwurzeln durch den mechanischen Stress des Medienwechsels vermieden wurde. Die gefundene kleine mittlere Abweichung von 1 ($0,12 \pm 0,2$) konnte nicht statistisch gesichert werden. Berücksichtigt man die relativ große Standardabweichung und die schwer vollständig auszuschließende Möglichkeit einer kleinen artifiziellen Erhöhung der hydraulischen Leitfähigkeit (vergl. Abschnitt 3.4), lassen die in Abbildung 11 dargestellten Ergebnisse zwar keine genaue Aussage über die Größe eines unselektiven apoplastischen Strömungsweges zu, zeigen aber, dass dieser Weg relativ unbedeutend gegenüber dem selektiven Weg durch die Protoplasten sein muss.

3.6 Bestimmung der radialen hydraulischen Leitfähigkeit verzweigter Wurzeln durch osmotische Beeinflussung des Volumenflusses

Der Begriff der radialen hydraulischen Leitfähigkeit L_P bezeichnet im Folgenden Kapitel das Verhältnis zwischen dem radialen Volumenfluss durch die intakte Wurzel und der radialen Wasserpotenzialdifferenz, er bezieht sich auf ein Wurzelsystem und hat die Dimension $\text{mm}^3 \text{ bar}^{-1} \text{ Wurzel}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Der übliche Bezug der Volumen- und Teilchenflüsse auf die Wurzeloberfläche erscheint bei verzweigten Wurzeln problematisch, weil bei der Bestimmung dieser Bezugsgröße beträchtliche Fehler unvermeidbar sind und weil das Wurzelgewebe, welches die Gefäße umgibt, als eine komplexe Membran anzusehen ist, bei der die Eintritts- und Austrittsflächen für die Flüsse zwischen dem Medium und dem Lumen der Gefäße ungleich und unbekannt sind. Der Fehler, der bei der oben dargestellten Verwendung des Begriffes der radialen hydraulischen Leitfähigkeit durch die Abweichung des Reflexionskoeffizienten des Osmolyten von eins entsteht, ist, wie die eigenen Ergebnisse zeigen, vernachlässigbar oder wenigstens relativ klein (vergl. Abschnitt 3.9). Den Arbeiten von Miller (1985) sowie von Knipfer und Fricke (2010) kann entnommen werden,

dass es berechtigt ist, auch für die Osmolyte des Xylemsaftes in erster Näherung einen Reflexionskoeffizienten von annähernd eins anzunehmen.

In den Experimenten, in denen die Wasserpotenzialdifferenz durch Änderung der hydrostatischen Druckdifferenz beeinflusst wurde, war die initiale Änderung des Xylemsaftflusses von der elastischen Reaktion der Gefäße bestimmt. In der sich anschließenden Periode der Etablierung eines neuen stationären osmotischen Gleichgewichts konnte sich der radiale Volumenfluss durch passive Änderung des osmotischen Druckes im Xylemsaft noch ändern. Daher kann weder die Anfangskinetik noch die Übergangskinetik der hydrostatisch bedingten Flussänderung zur Erfassung der radialen hydraulischen Leitfähigkeit des Wurzelsystems eingesetzt werden. Der von Arisz et al. (1951) geäußerten Vermutung, dass die maximale Hemmung kurze Zeit nach Zugabe des Osmolyten von der passiven Zunahme des osmotischen Druckes noch nicht stark beeinflusst ist, muss entgegengehalten werden, dass die volle Wirkung der osmotischen Veränderung des Mediums erst nach Einstellung des Diffusionsgleichgewichtes zwischen dem „apoplastischen Freien Raum“ und dem Medium einsetzt und dass während des Maximums der osmotisch bedingten Flusshemmung weder die Werte für den osmotischen Druck des Mediums an den kortikalen Plasmamembranen noch diejenigen des Xylemsaftes konstant oder berechenbar sind.

Es bleibt zu klären, ob die permanente Flussänderung nach Änderung der Wasserpotenzialdifferenz zur Bestimmung der hydraulischen Leitfähigkeit genutzt werden kann. Weil die Reaktion des Xylemsaftflusses auf Änderungen der radialen Druckdifferenz von schwer vermeidbaren artifiziellen Leckstellen im Kortex einiger Feinwurzeln abhängt und an unverletzten Wurzeln der Reflexionskoeffizient dem Wert eins nahekommt (vergl. auch Abschnitt 3.9), wäre der Veränderung der radialen Wasserpotenzialdifferenz durch Zugabe eines Osmolyten mit geringer Permeabilität der Vorzug zu geben. Wie im Abschnitt 3.3 ausführlich dargestellt wurde, überlagerte sich die passive Änderung des osmotischen Druckes im Xylemsaft mit der passiven Zunahme des osmotischen Druckes an der absorbierenden Wurzeloberfläche, wenn ein starker Xylemsaftfluss bei hohem Wasserpotenzial des Mediums durch Zugabe von PEG 600 um einen geringen Relativbetrag gehemmt wurde. Um L_p aus dem Verhältnis zwischen der permanenten Flusshemmung ΔJ_v und der Änderung des osmotischen Druckes im Medium $\Delta \pi_0$ berechnen zu können, müsste die bei der Einstellung des neuen osmotischen Fließgleichgewichtes erfolgende passive Änderung des osmotischen Druckes im Xylemsaft berechenbar und die aktive Veränderung dieses Wertes durch Veränderung des radialen Teilchenflusses in die Gefäße J_s vernachlässigbar sein. Beide Voraussetzungen sind weitgehend erfüllt, wenn erstens die Fluss-

änderung klein im Verhältnis zum Ausgangsfluss ist und zweitens der äußere osmotische Druck des Mediums gegenüber dem osmotischen Druck des Xylemsaftes vernachlässigt werden kann. Dies sind auch die Bedingungen, die zu einer sehr schnellen Einstellung des neuen Fließgleichgewichtes ohne ausgeprägtes Maximum der Hemmwirkung führten (vergl. Abschnitt 2.2.1.7).

Die Gesamtänderung der radialen Differenz des osmotischen Druckes nach Einstellung des neuen Fließgleichgewichtes ergibt sich unter den genannten Voraussetzungen als die Differenz zwischen $\Delta\pi_0$ und der passiven Zunahme des osmotischen Druckes im Xylemsaft $\Delta\pi_i$. Daher gilt,

$$L_P = \frac{-\Delta J_v}{\Delta\pi_0 - \Delta\pi_i} \quad (\text{Gl. 17}).$$

Bei kleinen Relativänderungen des stationären Xylemsaftflusses ist anzunehmen, dass aktive Änderungen des osmotischen Druckes vernachlässigt werden können, so dass die Konzentration des Xylemsaftes fast ausschließlich auf Grund des verringerten Wasserflusses zunimmt. In diesem Fall gilt,

$$J_v \pi_i = \text{konst.},$$

$$J_v d\pi_i + \pi_i dJ_v = 0$$

und die (negative) Relativänderung des Volumenflusses bei der Einstellung des neuen Fließgleichgewichtes ist ebenso groß wie die positive Relativänderung des osmotischen Druckes im Xylemsaft. Ist der osmotische Druck des Mediums im Verhältnis zu demjenigen des Xylemsaftes vernachlässigbar klein ($\pi_0 \ll \pi_i$), kann der osmotische Druck des Xylemsaftes durch L_P und J_v ausgedrückt werden,

$$\pi_i = \frac{J_v}{L_P} \quad (\text{Gl. 18}).$$

Die genannten Voraussetzungen ermöglichen es, π_i und $\Delta\pi_i$ durch die experimentell bestimmten Parameter J_v , ΔJ_v und L_P auszudrücken. Es ergibt sich durch Einsetzen in Gleichung (17),

$$L_P = \frac{-\Delta J_v}{\Delta\pi_0 + \frac{\Delta J_v}{J_v} \pi_i} = \frac{-\Delta J_v}{\Delta\pi_0 + \frac{\Delta J_v}{L_P}} \quad (\text{Gl. 19})$$

und weiteres Umformen

$$L_p = -2 \frac{\Delta J_v}{\Delta \pi_0} \quad (\text{Gl. 20}).$$

Gleichung 20 liefert, wie sich leicht zeigen lässt, einen Mindestwert für die radiale hydraulische Leitfähigkeit der Wurzel. Wäre ΔJ_v gegenüber J_v oder π_0 gegenüber π_i nicht sehr klein, ergäbe sich bei der Anwendung von Gleichung 20 ein zu niedriger Wert für L_p , weil in beiden Fällen der Betrag von $\Delta \pi_i$ größer wird als $\frac{\Delta J_v}{L_p}$. Es muss in diesem

Zusammenhang daran erinnert werden, dass der so bestimmte Parameter L_p sich auf den gesamten radialen Volumenfluss einer Wurzel bezieht. Diese Methode könnte künftig genutzt werden, um Veränderungen von L_p unter dem Einfluss der Temperatur oder chemischer Effektoren zu untersuchen. Besonders empfehlenswert wären zeitlich aufeinander folgende Messungen am gleichen Wurzelsystem. Für die Auswertung von Parallelversuchen müsste L_p auf die Gesamtlänge der Feinwurzeln oder eine mit diesem Parameter korrelierte Größe wie der Wurzelfrischmasse bezogen werden.

3.7 Kinetik des Volumenflusses nach Induktion eines radialen Teilchenflusses auf dem symplastischen Weg

Die in Abschnitt 2.2.1.9 dargestellten Ergebnisse zeigen, dass die Aufzeichnung der Exsudationsgeschwindigkeit sich dazu eignet, selektive Transportsysteme für den symplastischen radialen Teilchenfluss nachzuweisen. Die nahezu unverzögerte Steigerung des Volumenflusses nach Zugabe von Nitrationen zum nitratfreien Medium beweist, dass fast zeitgleich mit der Nitrataufnahme der osmotische Druck in den Xylemgefäßen der feinen Seitenwurzeln ansteigt. Bereits in den ersten zwei Minuten nach der Zugabe zum Medium war die osmotische Hemmwirkung wieder aufgehoben. Aus der starken anschließenden Überkompensation des osmotischen Effektes (Abbildung 18) kann man schließen, dass die Nitratkonzentration in den Xylemgefäßen im neuen Fließgleichgewicht weit über die Konzentration im äußeren Medium (1,5 mM) anstieg. Die Wirkung von Kaliumnitrat war für das Anion spezifisch. KCl hatte keine vergleichbare Wirkung. Das kann damit erklärt werden, dass Chloridionen bereits im Medium vorhanden waren und die Exkretion von Kaliumsalzen in den stelaren Apoplasten die Anwesenheit der Kaliumionen im äußeren Medium nicht erfordert. Die starken Flüsse, die in dem kaliumfreien CaCl_2 -Medium gemessen wurden, sind nicht ohne die Abgabe von Kaliumionen in das Lumen der Gefäße möglich. Offensichtlich konnten für die Aufrechterhaltung eines starken Volumenflusses im

verwendeten CaCl_2 -Medium die protoplastischen Kalium-Speicherpools genutzt werden, die nach der Anzucht der Pflanzen im Hoagland-Medium gesättigt waren. Dies erklärt auch, warum nach der Zugabe von Calciumnitrat zu den Wurzeln im kalium- und nitratfreien Medium der Stimulationseffekt beobachtet wurde (Tabelle 9). Wurden die Pflanzen 24 h lang oder länger auf einem Medium ohne Nitrationen gehalten, war der stimulierende Effekt der Nitrationen kaum noch feststellbar. Dies ist zweifellos damit zu erklären, dass mindestens eines der Membrantransportsysteme, die für den Radialtransport erforderlich sind, in Abwesenheit der Nitrationen durch Abbau (*turnover*) verloren ging. Dies ist für den nitratspezifischen Protonensymporter, mit dem Nitrat aufgenommen wird, bereits bekannt (Glass et al., 2002). Die osmotische Hemmwirkung bei der Zugabe von KNO_3 war nicht signifikant von der verschieden, die durch Mannitol ausgelöst wurde (Tabelle 9), wenn sich die Wurzeln zuvor mehr als einen Tag im nitratfreien Medium befanden oder das Medium bereits KNO_3 in millimolarer Konzentration enthielt. Letzteres wird durch die Sättigungskinetik des Nitrataufnahmesystems verständlich.

Das initiale Maximum der Hemmung war bei Erstzugabe von Nitrat zu Wurzeln mit induzierten Nitrat-Transportern deutlich reduziert. Dies zeigt, dass der zusätzliche Teilchenfluss in das Xylem sich bereits in den ersten Sekunden auswirkte. Daher ließ sich die „Wasserphase“ (*water phase*) der osmotischen Beeinflussung der Volumenflussänderung nicht sauber von der antagonistischen Wirkung des zusätzlich ausgelösten radialen Teilchenflusses trennen.

3.8 Permeabilität des Kortex für die apoplastische Diffusion

Wie bereits in der Einleitung (vergl. Abschnitt 1.1.2) erläutert, gibt es deutliche Hinweise dafür, dass es einen signifikanten rein apoplastischen Diffusionsweg für niedermolekulare Stoffe durch den Kortex der Wurzel gibt. Die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse zum Radialtransport von Säurefuchsin, Mannitol, Na^+ , Li^+ und Cl^- zeigen deutlich, dass der kortikale Apoplast der feinen Seitenwurzeln von Mais- und Schilfpflanzen eine begrenzte Permeabilität für alle genannten Stoffe hat und der rein apoplastische Weg bei hohen Mediumkonzentrationen den Radialtransport dominiert.

Bereits De Rufz de Lavison (1910, 1911) fand, dass die apoplastische Diffusion von Farbstoffen, welche nicht in den Symplasten aufgenommen werden, sowohl bei der Applikation über das Wurzelmedium als auch bei der Applikation über die Stele durch die Endodermis begrenzt wird. Der Autor folgerte, dass die Endodermis die entscheidende Barriere für die apoplastische Diffusion ist. Die Perfusionsexperimente welche an Mais- und

Schilfwurzeln durchgeführt wurden (vergl. Abbildung 5, Abbildung 28) lassen die Barrierefunktion der Endodermis für die radiale Diffusion von Säurefuchsin deutlich erkennen. In dieser Arbeit wurde außerdem gefunden, dass die Endodermis der feinen Seitenwurzeln in den Adventivwurzeln des Schilfes eine stärkere Diffusionsbarriere für NaCl darstellt als die äußeren Abschlussgewebe des Kortex (vergl. Abschnitt 3.2). Auch Tsuchiya et al. (1995a) folgerten aus den Untersuchungen zur Radialpermeation von NaCl durch die Keimwurzeln von Reis, bei welcher die Barrierefunktion der Exodermis und der Endodermis untersucht wurde, dass die Endodermis die entscheidende Barriere für den apoplastischen Transport von NaCl sei. Für die Keimwurzeln von Reis wurde berichtet, dass der Radialtransport von NaCl im apikalen Bereich, in dem die Endodermis noch nicht ausgebildet ist, größer als im basalen Bereich der Wurzel mit reifer Endodermis ist (Tsuchiya et al., 1995a). Die in dieser Arbeit durchgeführten Perfusionsexperimente mit Säurefuchsin zeigen, dass es bei den untersuchten Schilf- und den Maiswurzeln vor allem im subapikalen Bereich der Wurzel, wo die Endodermis noch wenig bzw. nicht lignifiziert/suberinisiert ist zur Radialdiffusion kommt (vergl. Abbildung 26a, b und Abbildung 28a, b). Dies kann mit der sekundären Verstärkung der Endodermis-Barriere an der Wurzelbasis erklärt werden. Die Ergebnisse sind im Einklang mit den Ergebnissen einer Untersuchung mit verschiedenen Varietäten von Reis (Tsuchiya et al., 1995b), in denen gefunden wurde, dass ein hoher Ligningehalt der kortikalen Zellwände mit niedrigen Werten für den Verteilungskoeffizienten der Natriumionen zwischen dem Xylemsaft und dem Medium korreliert war.

Werden Stoffe, welche nicht oder nur mit geringer Geschwindigkeit in den Symplasten aufgenommen werden, dem Wurzelmedium zugefügt, so kann man aus deren schnellem Erscheinen im Xylemsaft und der direkten Abhängigkeit der Xylemsaftkonzentration von der Mediumkonzentration über einen großen Konzentrationsbereich ableiten, dass es sich bei ihrem Radialtransport um einen passiven apoplastischen Transport handelt. Die hohe Konzentration an NaCl, welche im Exsudat von Schilfwurzeln des Brackwasserstandortes gefunden wurde (Tabelle 19) und die annähernd lineare Abhängigkeit dieser Konzentration von der Mediumkonzentration deuten daher auf dessen diffusiven apoplastischen Transport durch den Kortex der Feinwurzeln hin. Bei hohen Salzkonzentrationen des Mediums ist davon auszugehen, dass der trägervermittelte Radialtransport für Na^+ bereits gesättigt ist.

Die Hypothese des diffusiven apoplastischen Radialtransportes von Na^+ wird durch Experimente gestützt, in welchen Na^+ gegen Li^+ ausgetauscht wurde (Abbildung 34). Im Falle des salzadaptierten Schilfes kam es, trotz einer hohen symplastischen Konzentration an

Na^+ , zu einem schnellen und fast vollständigen Austausch gegen Li^+ im Xylemsaft, wenn Na^+ im Medium gegen Li^+ getauscht wurde. Aus diesen Befunden kann abgeleitet werden, dass die Natrium- und Lithiumionen nicht aus dem Symplasten in die Gefäße sekretiert wurden, sondern auf dem apoplastischen Weg durch die Zellwände der Endodermis in das Xylem permeierten. Vergleichbare Ergebnisse wurden bei den natriumfrei angezogenen Maispflanzen (Abbildung 19) gefunden. Unterstützt wird die Hypothese des apoplastischen Radialtransportes von Na^+ und Cl^- durch die Beobachtung, dass in den salzadaptierten Schilfpflanzen die Konzentration an Chlorid im Xylemsaft annähernd der Summe der Konzentrationen von Na^+ und Li^+ entsprach; dies ist bei einem gemeinsamen apoplastischen Transport aus Gründen der elektrischen Homöostase zu erwarten, wenn diese Salze das Ionenmilieu im Medium dominieren. Auch Naito et al. (1994) fanden, dass der Radialtransport von Cl^- in das Xylem von Reiswurzeln direkt mit dem von Na^+ korreliert und von der Wurzelrespiration unabhängig war, wenn das Medium NaCl in hoher Konzentration enthielt, und folgerten dass der Transport von Na^+ und Cl^- ein elektrisch gekoppelter passiver Vorgang ist. Der Selbstdiffusionskoeffizient der Chloridionen in Wasser ($2,03 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) ist größer als für Natriumionen ($1,33 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) und Lithiumionen ($1,03 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) (Lide, 2004). Da bei hohen Salzkonzentrationen der Anionenausschlusseffekt der Zellwandmatrix entfällt, sollte die Kationendiffusion den Radialtransport des Chlorids begrenzen.

Anders als in den Schilfpflanzen war bei den nicht-salzadaptierten Maispflanzen die Tendenz zu beobachten, dass der apparente Radialfluss von Li^+ in die Xylemgefäße größer war als der von Na^+ . Da bei den Experimenten mit den Maiswurzeln eine relativ geringe Salzkonzentration (15 mM) eingesetzt wurde und das Wurzelgewebe noch keine Natriumionen gespeichert hatte, könnte bei den Maiswurzeln die Konzentration der Natriumionen im „apoplastischen Freien Raum“ des Kortex durch deren stärkere Aufnahme in die Protoplasten stärker reduziert worden sein als diejenige der Lithiumionen. Ein negativer Einfluss der Speicherung von Natriumionen in den Vakuolen der Wurzel auf den Radialfluss wurde unter anderem von Jeschke (1977a, b) und Jeschke et al. (1983) an Gerstenwurzeln beschrieben. In den Experimenten mit den salzadaptierten Schilfpflanzen wurde eine etwa 8-fach höhere Konzentrationen an NaCl und LiCl eingesetzt als bei den Experimenten mit Mais, die Natriumaufnahme in den Symplasten hatte daher vermutlich keinen starken Einfluss auf den diffusiven Radialfluss. Wie die Presssaftanalyse der Adventivwurzeln zeigt, war Na^+ im salzadaptierten Schilf in den Vakuolen bereits in hoher Konzentration

vorhanden. Dennoch fand ein signifikanter Radialfluss in die Xylemgefäße nur dann statt, wenn im Medium Natriumionen vorhanden waren (vergl. Abschnitt 2.2.2.5).

3.9 Bestimmung des Reflexionskoeffizienten permeabler Osmolyte aus ihrer Verdünnung im Xylemsaft bei der Steigerung des Volumenflusses

Der Reflexionskoeffizient setzt den Austauschfluss (J_D) in Relation zum Volumenfluss (J_v) (vergl. Abschnitt 1.1.5). Er bringt damit zum Ausdruck, wie selektiv der durch Druckdifferenzen bewirkte Transport eines Lösungsmittels (J_v) durch eine Membran im Vergleich zum druckabhängigen Transport der gelösten Teilchen eines Osmolyten (J_s) ist. Dies eröffnet die Möglichkeit, den Reflexionskoeffizienten einer Membran für einen bestimmten Osmolyten unabhängig von seiner radialen Permeabilität zu bestimmen. Ein hierzu besonders geeignetes Verfahren beruht auf der Analyse der Abhängigkeit der *trans*-Konzentration des Osmolyten bei der Umkehrosmose (Ultrafiltration) in Abhängigkeit vom Volumenfluss (Kedem und Katchalsky, 1963). Hierbei wird die Druckdifferenz gesteigert, bis das *trans/cis*-Verhältnis der Konzentration des Osmolyten einen konstanten Wert erreicht. Hohe Werte dieses Verhältnisses bei schwachen Volumenflüssen zeigen zwar, dass die Membran permeabel für den Osmolyten ist, sie können aber auch dann auftreten, wenn der Reflexionskoeffizient dem Wert eins nahekommt. Dies ist dann der Fall, wenn der Teilchenfluss durch die Membran mechanistisch nicht oder nur wenig mit dem Volumenfluss gekoppelt ist. In einem solchen Fall verdünnt sich der Osmolyt im Permeat mit zunehmendem Volumenfluss. Wenn das volumenflussabhängige Konzentrationsverhältnis des Osmolyten $\chi = C_{trans}/C_{cis}$ sich einem Grenzwert χ^* nähert, kann aus diesem Grenzwert, welcher der maximalen Permeatverdünnung entspricht, der Reflexionskoeffizient bestimmt werden

$$\chi^* = 1 - \sigma \quad (\text{Gl. 21}).$$

Dieser Ansatz konnte durch Bestimmung der Abhängigkeit der Mannitol-Translokation aus dem Medium in den Spross von der Transpiration der Maispflanzen genutzt werden, nachdem gezeigt wurde, dass die im Spross nachweisbare Menge des Alditols durch stoffwechselbedingten Abbau nicht signifikant verringert wird (Abschnitt 2.2.1.11). Bezogen auf einen längeren Zeitraum entsprach der radiale Fluss des Mannitols in die Gefäße der Wurzel annähernd dem axialen Fluss in den Spross. Wäre der kortikale Apoplast ein signifikanter

hydraulischer Weg für den radialen Wasserfluss in die Gefäße, müsste der radiale Teilchenfluss J_s als Kombination aus Diffusion und unselektivem Massenfluss (*solvent drag*) aufgefasst werden. In diesem Fall könnte die Abhängigkeit J_s von J_v durch folgende Gleichung ausgedrückt werden

$$J_s = C_x J_v = P(C_0 - C_x) + J_v C_0 (1 - \sigma) \quad (\text{Gl. 22}).$$

In Gleichung 22 ist C_x die Gleichgewichtskonzentration im Xylemsaft und σ der Reflexionskoeffizient für den Osmolyten. Der apparente Permeabilitätskoeffizient (P) beschreibt die lineare Abhängigkeit des diffusiven Teilchenflusses von der Differenz der Teilchenkonzentrationen ($C_0 - C_x$) im Wurzelmedium (C_0 , Retentat) und im Xylemsaft (C_x , Permeat). P hat die gleiche Einheit wie J_v ($\text{cm}^3 \text{ h}^{-1} \text{ Wurzel}^{-1}$). Gleichung 23 definiert die Abhängigkeit des

Verhältnisses $\chi = \frac{C_x}{C_0}$ vom Volumenflusses J_v

$$\chi = \frac{C_x}{C_0} = \frac{P}{J_v + P} + \frac{J_v(1 - \sigma)}{J_v + P} \quad (\text{Gl. 23}).$$

Aus dieser Gleichung wird deutlich, dass mit $J_v \gg P$ das Konzentrationsverhältnis χ dem Grenzwert χ^* entgegenstrebt

$$\chi^* = 1 - \sigma \quad (\text{Gl. 24}).$$

Die Zusammenfassung aller Messwerte in Tabelle 11 zeigt, dass sich die Mannitolkonzentration im Xylemsaft in allen Fällen gegenüber der Konzentration des Mediums um mehr als 99 % verringerte. Es kann gefolgert werden, dass der Reflexionskoeffizient σ_r der Maiswurzel für Mannitol nahe eins ist. Wenn man den zweiten Term in der obigen Gleichung vernachlässigt, so sollte der Kehrwert von χ linear vom Volumenfluss abhängen

$$\frac{1}{\chi} = 1 + \frac{J_v}{P} \quad (\text{Gl. 25}).$$

Dies war, wie in Abbildung 23c gezeigt, bei den untersuchten Maispflanzen in guter Näherung der Fall. Das Konzentrationsverhältnis wurde mit steigendem Volumenfluss kleiner als 0,01 (Abbildung 23b) und konnte im gesamten Wertebereich sehr gut durch Gleichung 23 beschrieben werden, wenn der Permeabilitätskoeffizient P nach Gleichung 25 aus der linearen Abhängigkeit zwischen $1/\chi$ und J_v (Abbildung 23c) bestimmt wurde. Hieraus folgt, dass Gleichung 23 die gefundene Abhängigkeit des Konzentrationsverhältnisses vom Volumenfluss adäquat beschreibt. Durch lineare Regression ergab sich ein Permeabilitätskoeffizient für Mannitol ($P = 0,037 \text{ mm}^3 \text{ min}^{-1} \text{ Wurzel}^{-1}$).

Auch bei den untersuchten Schilfwurzeln wurde die Bestimmung des Teilchenflusses in Abhängigkeit vom Volumenfluss zur Abschätzung des Reflexionskoeffizienten eingesetzt. Aus Abbildung 35 wird deutlich, dass ein vom Wert eins stark abweichender Reflexionskoeffizient der Schilfwurzeln für NaCl ausgeschlossen werden kann, da es bei steigendem Volumenfluss zu einer signifikanten Verdünnung von NaCl im Xylemsaft gegenüber dem NaCl-haltigen Medium kam. Bei den höchsten Radialflüssen nahm χ^* Werte von weniger als 0,01 an. Entsprechend Gleichung 24 folgt, dass auch der Reflexionskoeffizient der Schilfwurzeln für NaCl größer als 0,99 ist.

3.10 Fehlen von echtem *solvent drag* und *pseudo solvent drag* durch strömungsbedingte Konzentrationszunahme permeabler Osmolyte im kortikalen Apoplasten

Über sehr niedrige *trans/cis*-Konzentrationsverhältnisse (χ) für verschiedene Osmolyte beim hydrostatisch getriebenen Radialtransport des Wassers durch intakte Wurzelsysteme wurde in der Vergangenheit mehrfach von verschiedenen Autoren berichtet. Perry und Greenway (1973) und Salim und Pitman (1984) fanden eine starke Verdünnung von Mannitol und Glucose im Xylemsaft von dekapitierten Tomatenpflanzen, wenn der Volumenfluss durch das Anlegen eines hydrostatischen Druckgradienten von bis zu 2 bar unterstützt wurde. Die in diesen Studien gefundenen Werte für χ (0,033 und 0,044) waren größer als die in dieser Arbeit für transpirierende Maispflanzen und Adventivwurzeln des Schilfes gefundenen Werte. In beiden Studien wurde jedoch der angelegte Druckgradient nicht weiter erhöht, es ist daher wahrscheinlich, dass das Konzentrationsverhältnis χ noch nicht den Grenzwert ($\chi^* = 1 - \sigma$) erreicht hatte.

Munns (1985) untersuchte die Konzentration und den Transfer von Na^+ und Cl^- in das Exsudat dekapitierter Wurzelsystem der Gerste. Anders als die Tomatenpflanzen, welche von Perry und Greenway (1973) und Salim und Pitman (1984) untersucht wurden, wurden die Gerstenpflanzen in einem festen Substrat angezogen und vor der Untersuchung nicht aus diesem entfernt. Letzteres wurde regelmäßig mit einem Mineralmedium, welches 50 - 200 mM NaCl enthielt, gewässert. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass es bei den untersuchten Wurzeln nicht zu wie in Abbildung 5 dargestellten Verletzungen kam, welche die Selektivität der Wurzelmembran verringern und den apparenten Wert des Konzentrationsverhältnisses χ erhöhen. Bei einer externen Konzentration von 50 mM wurde der radiale Volumenfluss durch eine Erhöhung des externen hydrostatischen Druckes über

einen weiten Bereich gesteigert, dies führte zu einer Verringerung von χ für Na^+ von 0,54 beim niedrigsten Wert des Volumenflusses zu einem Wert von 0,03 beim höchsten Volumenfluss. Bei einer externen Konzentration von 200 mM NaCl war χ sogar bis auf einen Wert von ca. 0,02 reduziert. Da der Einfluss von J_v auf die Konzentration von Cl^- derjenigen von Na^+ entsprach, lassen die Ergebnisse die Folgerung zu, dass σ_r der Gerstenwurzeln für Na^+ und Cl^- nahe eins ist. Wie in der vorliegenden Arbeit war auch in der Arbeit von Munns (1985) der radiale Fluss (J_s) von NaCl im Bereich starker Volumenflüsse von J_v unabhängig. Wie bereits in Abschnitt 1.1.5.2 erläutert wurde, kann die Abhängigkeit des radialen Teilchenfluss vom Radialfluss des Wassers bei niedrigen Werten von J_v als eine besondere Form von *pseudo solvent drag* gedeutet werden, die auf der Abhängigkeit der Xylemsaftkonzentration vom Volumenfluss beruht (vergl. auch Abschnitt 3.9).

Aus den Arbeit von Ochiai und Matoh (2002) kann ebenfalls das Fehlen von echtem *solvent drag* von Na^+ durch Wurzelsysteme von Reis gefolgert werden, da die Translokationsrate von Na^+ in den Spross der Reispflanzen über einen großen Bereich von der Transpirationsrate unabhängig war, jedoch in einer linearen Beziehung zur Mediumkonzentration stand. An isolierten Reis-Keimwurzeln wurde gefunden, dass es bei einer Verstärkung des Volumenflusses zu einer starken Verringerung der Xylemkonzentration mit hyperbolischem Verlauf kam, wobei das Konzentrationsverhältnis χ bei schwachen Volumenflüssen Werte von 0,2 bis 0,8 annahm und bei den stärksten Volumenflüssen auf Werte von weniger als 0,03 abfiel (Tsuchiya et al., 1992; Naito et al., 1994; Tsuchiya, 1996; Makihara et al., 1998).

Die Abwesenheit einer signifikanten Strömung durch die Radialwände der Endodermis schließt die Möglichkeit eines *solvent drag* im kortikalen Apoplasten nicht aus. Ein starker Volumenfluss durch die Zellwände des Kortex bis zur Endodermis müsste zu einer Erhöhung der Konzentration des Osmolyten im „apoplastischen Freien Raum“ relativ zur Konzentration des Mediums führen, wenn im Fließgleichgewicht die Geschwindigkeit der Rückdiffusion kleiner ist oder sich in der gleichen Größenordnung bewegt wie die Strömungsgeschwindigkeit des Lösungsmittels auf dem Zellwandweg (vergl. Dainty et al., 1981). Die Konsequenz wäre eine flussabhängige Akkumulation der gelösten Stoffe an der äußeren Seite der Endodermis, welche besonders bei starken Volumenflüssen einen *pseudo solvent drag* (vergl. Abschnitt 1.1.5.2) verursachen müsste, da die Diffusion durch die Endodermis mit der Konzentration im kortikalen Apoplasten ansteigen würde. Der *pseudo solvent drag* durch strömungsbedingte Konzentrationserhöhung des Osmolyten vor der Endodermis würde dazu führen, dass der Teilchenfluss bei Verstärkung des Volumenflusses

ansteigt. Die prozentuale Förderung des diffusiven Teilchenflusses würde sich mit dem Volumenfluss verstärken. Bei Vorliegen starker Volumenflüsse, welche die Geschwindigkeit der radialen Teilchendiffusion deutlich übersteigen, würde der diffusive Teilchenfluss annähernd linear mit dem Volumenfluss ansteigen, wie man leicht zeigen kann. Hierdurch würde das Konzentrationsverhältnis χ zwischen Xylemsaft (Permeat) und Medium (Retentat) mit steigendem Volumenfluss einem konstanten Grenzwert zustreben, der deutlich größer als null ist, was in an Mais- und Schilfwurzeln nicht festgestellt wurde. Wird eine Unabhängigkeit der radialen Teilchenpermeation vom Volumenfluss beobachtet, kann sowohl echter *solvent drag* als auch *pseudo solvent drag* durch Stau der Osmolyte vor der Endodermis ausgeschlossen werden. Sowohl die in dieser Arbeit gezeigten Daten zur Permeatverdünnung von Na^+ bei Schilf und Mannitol bei Mais (vergl. Abschnitt 2.2.1.11 und 2.2.2.7), als auch die Arbeiten an Reispflanzen von Munns (1985), Tsuchiya (1996), Naito et al. (1994), Tsuchiya et al. (1992, 1993, 1994), Makihara et al. (1998) und Ochiai und Matoh (2002) zeigten eine Unabhängigkeit von $J_s(\text{Na}^+)$ von J_v bei starken Volumenflüssen. Dies bedeutet entweder, dass der Volumenfluss auf dem gesamten Zellwandweg einschließlich der Endodermis gegenüber dem durch die Protoplasten vernachlässigt werden kann, oder dass die radiale Diffusionsgeschwindigkeit in den Zellwänden des Kortex bis zur Endodermis diejenige der Massenströmung bei weitem übersteigt. Aus diesem Grund soll exemplarisch für die in dieser Arbeit untersuchten Wurzelsysteme von Mais abgeschätzt werden, wie groß die Geschwindigkeit der Strömung durch den Apoplasten bis zur Endodermis im Vergleich mit der Geschwindigkeit der Diffusionsgeschwindigkeit des Mannitols ist, wenn man davon ausgeht, dass das Wasser bis zur Endodermis hauptsächlich durch die Zellwände strömt. Der Volumenfluss (J_v) durch die untersuchten Maiswurzeln betrug bei starker Permeatverdünnung mehr als $0,15 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1} \text{ Wurzel}^{-1}$. Bei einem mittleren Wurzelgewicht von 0,7 g beträgt das Gewicht der Feinwurzeln, welche hauptsächlich für die Wasseraufnahme relevant sind ca. 0,2 g. Bei einem mittleren Radius von 150 μm der als zylinderförmig betrachteten Feinwurzeln und einer Dichte von ca. 1 g cm^3 ergibt sich eine Gesamtoberfläche der Feinwurzeln von ca. 25 cm^2 bzw. eine Strömungsgeschwindigkeit von 60 nm s^{-1} in Richtung der Endodermis. Nimmt man nun an, dass der Flächenanteil der Zellwände 3 bis 5 % beträgt (Crowdy und Tanton, 1970), wäre bei Beschränkung des Volumenflusses auf den Apoplasten eine Strömungsgeschwindigkeit von 1,3 bis $2,1 \mu\text{m s}^{-1}$ anzunehmen. Geht man davon aus, dass der Diffusionskoeffizient von Mannitol in den Zellwänden der Wurzel bei etwa $10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ liegt (vergl. Richter und Ehwald, 1983), würde die Diffusionsgeschwindigkeit auf dem ca. 100 μm langen Zellwandweg etwa $0,1 \mu\text{m s}^{-1}$

betragen. Sie wäre damit eine Größenordnung kleiner als die Strömungsgeschwindigkeit des Wassers im kortikalen Apoplasten, falls der größte Teil des Volumenflusses bis zur Endodermis in den Zellwänden stattfinden würde. Diese Abschätzung zeigt, dass es bei einem rein apoplastischen Volumenfluss durch die Zellwände des Kortex zu einer Aufkonzentrierung des Mannitols an der Endodermis und damit zu einem konvektionsbedingten *pseudo solvent drag* kommen müsste. Da eine Abhängigkeit des Mannitolflusses vom Volumenfluss nicht gefunden wurde (Abbildung 35), kann gefolgert werden, dass der größte Teil des Wasserflusses bereits in den der Endodermis vorgelagerten Kortexschichten auf dem protoplastischen Weg stattfindet.

3.11 Änderungen der Konzentration des exsudierten Xylemsaftes und ihre Bedeutung für die Interpretation von radialen Volumenflüssen und Wurzeldruckänderungen

Es ist im Zusammenhang mit der Xylemsaftexsudation und dem Wurzeldruck wichtig, bei der Verwendung des Begriffes des radialen Teilchenflusses alle radial gerichteten Teilchenflüsse in die Xylemgefäße einzubeziehen, daher auch solche, bei denen das äußere Medium und solche, bei denen der Symplast die Quelle der Teilchen darstellt. Letzteres schließt auch die Teilchenflüsse ein, die aus dem Phloem gespeist werden.

Die Stele der Hauptwurzel erfüllt nicht ausschließlich die Eigenschaft einer passiven Leitungsbahn, bei der kein Ionenaustausch zwischen dem Xylemsaft und den Xylemparenchymzellen stattfindet. Auch wenn der Austausch mit dem Medium vergleichsweise gering ist, kann der Symplast Ionen aus dem Xylemsaft entnehmen oder in ihn ausscheiden (Klepper, 1967). Diese Autorin fand jedoch, dass dies keinen signifikanten Einfluss auf die Konzentration des Xylemsaftes hat, wenn die Wurzeln in ihrem zur Anzucht verwendeten Medium exsudieren. Aus den eigenen an isolierten Hauptwurzeln von Mais durchgeführten Untersuchungen wird deutlich, dass sich die Ionenkonzentration des Xylemsaftes sehr schnell und reversibel verändert, wenn der Fluss vorübergehend unterbrochen wird und dass Nettoflüsse von Elektrolyten zwischen dem strömenden Xylemsaft und dem Symplasten der maternalen Wurzel möglich sind (Abschnitt 2.2.1.12).

Nach vorübergehendem Verschluss des Exsudatablaufes wurde ein deutlicher Anstieg der Ionenkonzentration im Xylemsaft gemessen. Auf Grund der unübersichtlichen Mischungskinetik des Xylemsaftes der einzelnen Feinwurzeln mit dem Saft der sich

während der Flussunterbrechung in der Hauptwurzel befand ist nicht eindeutig zuordenbar, zu welchem Zeitpunkt nach Beginn der Exsudation der Saft aus den Feinwurzeln die Messelektrode erreichte und zu welchem Grad dieser Saft mit demjenigen aus der Stele der Hauptwurzel gemischt war. Geht man von der Annahme aus, dass die Xylemgefäße einen Anteil von 3 - 4 % an der Frischmasse der Wurzel haben (Miller, 1981), wurde die maximale elektrische Leitfähigkeit und damit die maximale Konzentration an Elektrolyten erreicht, nachdem ungefähr 25 - 30 % des Xylemvolumens der gesamten Wurzel ausgeströmt war. Dieses Volumen entspricht ungefähr dem Volumen der Metaxylemgefäße in der Hauptwurzel. Die Leitfähigkeitsmessungen zeigen deutlich den hinsichtlich der Teilchenflüsse nichtkonservativen Charakter der kortikalen Barriere um die Gefäße.

Auch die in Abschnitt 2.2.1.9 dargestellten und in Abschnitt 3.7 diskutierten Ergebnisse zeigen, dass die Exkretion der Elektrolyte in das Xylem der Feinwurzeln sehr schnell zu signifikanten Konzentrationsänderungen im Xylemsaft führen kann. Die Dynamik der Änderung des osmotischen Druckes in den Xylemgefäßen auf Grund der Exkretion von symplastischen Stoffen ist so stark, dass sie bei der Interpretation von Wurzeldruckverläufen nicht vernachlässigt werden darf, wenn diese sich über einen Zeitverlauf von mehreren Minuten erstrecken. Ihre Vernachlässigung kann beispielsweise zu einer Unterschätzung der osmotisch bedingten Druckänderungen bzw. des Reflexionskoeffizienten führen (vergl. Abschnitt 1.1.6). Die Inkonstanz der Xylemsaftkonzentration ist ein grundsätzliches Problem für die Interpretation des Übergangsverhaltens von einem osmotischen Fließgleichgewicht zum anderen. Die Übergangskinetik des Volumenflusses und des Wurzeldruckes werden durch den nichtkonservativen Charakter der Gewebsmembran zwischen dem Medium und dem Xylemsaft stark beeinflusst und schwer berechenbar gestaltet. Dies spricht für den in dieser Arbeit eingeschlagenen Weg, die den radialen Wassertransport charakterisierenden Parameter durch Messungen im Fließgleichgewicht unter Vermeidung starker Relativänderungen des Volumenflusses zu bestimmen.

3.12 Die Bedeutung der radialen Salzpermeation für die Salztoleranz des Schilfes

Auch auf die stelare Exsudation wirkte Natriumcitrat bei den Feinwurzeln des Schilfes mit viel größerer Effizienz als NaCl (Abschnitt 2.2.2.3). Dies zeigt, dass auch die Endodermis für NaCl eine größere Permeabilität besitzt als für Natriumcitrat. NaCl trug zu etwa 70 % zum osmotischen Druck des Xylemsaftes von in Brackwasser exsudierenden Wurzeln bei,

erreichte aber niemals die Konzentration, die im Medium vorlag. Dagegen waren zweifellos die Konzentrationen der Kaliumionen, der polyvalenten organischen Säureanionen, der Aminosäuren und Säureamide, des Nitrates, Phosphates und Sulfates im Xylemsaft weit höher als im Medium. Der stoffwechselabhängige Radialtransport dieser Stoffe kann in Verbindung mit der hohen Permeabilität der Endodermis für NaCl erklären, warum die Feinwurzeln selbst bei hohen Konzentrationen von NaCl eine dauerhafte stelare Exsudation zeigten. Dass diese Interpretation richtig ist, wird durch die Ergebnisse bestätigt, die mit dem Volumenfluss-Sensor an intakten Schilfwurzeln erzielt wurden. Aus dem Vergleich der permanenten Änderung der Flussänderung nach Zusatz von NaCl und PEG 600 konnte abgeleitet werden, dass die Feinwurzeln des Schilfs für NaCl einen deutlich geringeren radialen Diffusionswiderstand besitzen als für PEG 600 (vergl. Abschnitt 2.2.2.4). Diese Ergebnisse beziehen sich auf sehr hohe Osmolytkonzentrationen und schwache Volumenflüsse, bei denen im Fall von NaCl das Konzentrationsverhältnis zwischen dem Xylemsaft und dem Medium Werte von weit über 0,5 annimmt. Wie bei den isolierten Feinwurzeln wurde an den intakten Adventivwurzeln die Fähigkeit zur Xylemsaft-Ausscheidung aus dem Brackwasser nach Erhöhung der Salzkonzentration bis nahe an die Grenzplasmolysekonzentration festgestellt (vergl. Abschnitt 2.2.2.3 mit 2.2.2.4). Die ökologische Bedeutung der radialen Permeabilität der Feinwurzeln für NaCl besteht darin, dass sie die Wasseraufnahme aus dem Brackwasser bei niedriger Kohäsionsspannung des Xylemsaftes erleichtert und von der Salzkonzentration des Mediums unabhängig macht.

Die in Tabelle 20 dargestellte Abnahme der Natrium- und Chloridkonzentration im Xylemsaft der Halminternodien beim Aufstieg des Xylemsaftes entspricht der Situation *in situ*, da beim Heraustrennen der Internodien aus dem Spross der Xylemsaftfluss unterbrochen wird und die elastische Volumenkapazität der Zellen des Halmes so klein ist, dass Wasserflüsse zwischen ihnen und den Gefäßen die Konzentration des Xylemsaftes nicht signifikant beeinflussen können. Diese Befunde ergänzen Befunde bisheriger Arbeiten mit salzadaptierten Schilfpflanzen (Matoh et al., 1988; Matsushita und Matoh, 1991, 1992; Kanai et al., 2007; Takahashi et al., 2007), in welchen das Entfernen von Na^+ aus dem aufsteigenden Xylemsaft, die Abgabe von Na^+ an das Phloem sowie die Na^+ -Speicherung im Parenchym der basalen Internodien gezeigt wurde. In der vorliegenden Arbeit wurde zusätzlich gefunden, dass es an Pflanzen eines Brackwasserstandorts neben der Verringerung der Konzentration von Na^+ auch zur Verringerung der Konzentration von Cl^- und des osmotischen Druckes des Xylemsaftes beim Aufstieg des Saftes von den basalen bis zu den medialen Halminternodien kommt (Tabelle 20). In der Arbeit von Matoh et al. (1988) wurde

eine Abgabe des retranslozierten $^{22}\text{Na}^+$ in ein natriumhaltiges nichtmarkiertes Medium gezeigt. Dieser Befund beweist nicht die Nettoentsalzung durch die Wurzel, da es sich bei dem beobachteten Vorgang um eine Austauschdiffusion mit dem unmarkierten NaCl des Mediums handeln könnte. Eine Nettoexkretion des Na^+ in das Medium könnte für die Aufrechterhaltung der Elektrolyt-Homöostase notwendig sein, wie durch den Vergleich der Summe der untersuchten dominierenden Kationen und Anionen im Xylemsaft und im Presssaft verschiedener Organe deutlich wird (vergl. Tabelle 19, Tabelle 20 und Tabelle 21). Die Daten zeigen, dass die Konzentration von Na^+ im Blättern, Rhizomen und Wurzeln deutlich geringer war als die Konzentration von Cl^- , obwohl beide Ionen in annähernd gleicher Konzentration im exsudierten Xylemsaft der Wurzel nachgewiesen wurden.

3.13 Schlussfolgerungen in Thesenform

1. Die vom Kortex der feinen Seitenwurzeln gebildete komplexe Gewebemembran zwischen dem Medium und den Xylemgefäßen besitzt einen Reflexionskoeffizienten von nahe eins für Zucker, Zuckeralkohole, Salze und Polymere. Dies wurde sowohl für die isolierten Feinwurzeln als auch für die intakten verzweigten Wurzelsysteme junger Maispflanzen und die halmbürtigen Adventivwurzeln des Schilfes nachgewiesen und steht im Widerspruch zur Hypothese eines signifikanten rein apoplastischen Strömungsweges für den radialen Wassertransport.
2. Die radialen Wände der Endodermis der Feinwurzeln von Schilf und Mais sind keine perfekte Diffusionsbarriere für niedermolekulare Zuckeralkohole und Salze. Liegen diese Stoffe in hoher Konzentration im Medium vor, permeieren sie passiv unter Umgehung der Protoplasten durch die Zellwände der Endodermis in die Xylemgefäße. Dies führt in der Regel nur bei geringer Geschwindigkeit des radialen Volumenflusses zu Konzentrationen der genannten Osmolyte im Xylemsaft, die im Vergleich mit ihrer Konzentration im äußeren Medium relevant sind.
3. Die Abwesenheit eines nachweisbaren echten *solvent drag* für Mannitol konnte erstmalig an Wurzeln intakter transpirierender Maispflanzen eindeutig nachgewiesen werden. Hierdurch wurde gezeigt, dass der radiale Reflexionskoeffizient der verzweigten Maiswurzel für Mannitol größer als 0,99 ist. Das Fehlen eines echten *solvent drag* für NaCl an isolierten Adventivwurzeln des Schilfes, bei denen hohe Volumenflüsse durch Applikation von hydrostatischem Überdruck auf das Medium induziert wurden, beweist

ebenso wie die Untersuchungen zum Mannitoltransport an Maiswurzeln, dass der radiale Volumenfluss des Wassers fast ausschließlich durch die Protoplasten verläuft und von der apoplastischen Teilchendiffusion unabhängig ist.

4. Durch die in dieser Arbeit entwickelten Methoden zur Erfassung der Flussrichtung des Xylemsaftes in isolierten Feinwurzeln kann ein Medianwert des osmotischen Druckes des Xylemsaftes in feinen Seitenwurzeln bestimmt werden. Er entspricht dem osmotischen Druck eines Mediums, bei welchem der initiale radiale Volumenfluss bei der Hälfte der untersuchten Feinwurzeln in die Stele und bei der anderen Hälfte in Richtung des Wurzelmediums gerichtet ist.
5. Der Medianwert des osmotischen Druckes des Xylemsaftes der feinen Seitenwurzeln junger Maispflanzen (π_x) ist mit dem osmotischen Druck des Xylemsaftes korreliert, welcher vor der Isolation der Feinwurzeln an der Basis der Hauptwurzel gesammelt wird. Aus der Tatsache dass dieser Medianwert stets größer war als der osmotische Druck des Xylemsaftes, der an der Basis der Hauptwurzel gesammelt wird, kann abgeleitet werden, dass die gefundene hohe Variationsbreite von π_x in den Feinwurzeln durch die Variabilität der radialen hydraulischen Leitfähigkeit stärker beeinflusst wird als durch die Variabilität des radialen Teilchenflusses.
6. Werden isolierte Feinwurzeln in einem Glucose enthaltenden Medium gehalten, stabilisiert dies den osmotischen Druck des in ihnen strömenden Xylemsaftes im Verlauf einiger Stunden durch Vermeidung oder Begrenzung des Kohlenhydratmangels.
7. Die Übergangskinetik des radialen Volumenflusses durch verzweigte Maiwurzeln nach Veränderung der radialen hydrostatischen Druckdifferenz um einen relativ zur anfänglichen radialen Wasserpotenzialdifferenz kleinen Betrag lässt sich als Summe zweier Exponentialfunktionen beschreiben. Die initiale maximale Änderung wird ohne messbare Verzögerung erreicht und ist wesentlich größer als die maximale Änderung bei einer gleich großen Änderung der osmotischen Differenz. Sie beruht überwiegend auf einer elastischen Änderung des Volumens der großen Xylemgefäße in der Hauptwurzel und lässt keine Aussage über den radialen Volumenfluss zu. Die erste Phase der Flussänderung klingt mit einer Halbwertszeit von wenigen Sekunden ab und ist nach 20 bis 30 s beendet. Die zweite Phase der Übergangskinetik klingt mit einer deutlich größeren Halbwertszeit ab und ist nach einigen Minuten beendet. Sie kann mit der passiven

Änderung der Xylemsaftkonzentration infolge des veränderten Volumenflusses erklärt werden.

8. Verletzungen von Mais-Wurzelsystemen in einer Hydrokultur, die beim Entnehmen der Wurzel aus dem Medium entstehen, lassen sich durch die Perfusion mit Säurefuchsin-Lösung sichtbar machen. Die Verletzungen treten hauptsächlich nahe der Basis der Seitenwurzeln auf. Sie führen zu Überschätzung der hydraulischen Leitfähigkeit und können einen niedrigen Reflexionskoeffizienten vortäuschen, weil sie unselektive Strömungswege darstellen. Bei den kurzen Feinwurzeln der halmbürtigen Adventivwurzel des Schilfes, die sich im Freiwasser entwickelt, waren solche Verletzungen selten.
9. Die maximale Änderung des Volumenflusses nach Veränderung des osmotischen Druckes des Mediums wird an verzweigten Wurzelsystemen junger Maispflanzen nach einer Übergangszeit von 10 bis 20 Sekunden erreicht. Die genannte Verzögerung beruht auf dem Zeitbedarf für den mischungs- und diffusionsbedingten Konzentrationsausgleich zwischen dem Medium und dem Oberflächenfilm der Seitenwurzeln. Wird ein Osmolyt mit vernachlässigbarer radialer Permeabilität in geringer Konzentration zu Wurzeln mit starkem Exsudationsfluss hinzugegeben, stellt sich in wenigen Minuten ein neues Fließgleichgewicht ein, bei dem der osmotische Druck des Xylemsaftes bereits passiv durch die osmotisch bedingte Hemmung des Wasserflusses erhöht ist. Das initiale Maximum der Hemmung konnte kinetisch nur dann eindeutig vom Anstieg der Exsudationsgeschwindigkeit durch den passiven Konzentrationsanstieg des Xylemsaftes getrennt werden, wenn auf Grund eines erhöhten osmotischen Druckes im Medium der Xylemsaftfluss reduziert war und der osmotische Druck des Xylemsaftes bereits einen hohen Wert besaß.
10. Die durch Zugabe eines Osmolyten bewirkte permanente Flussänderung an einer exsudierenden Wurzel kann zur Bestimmung ihrer hydraulischen Leitfähigkeit verwendet werden. Hierfür wurde eine einfache Gleichung für den experimentell realisierbaren Fall abgeleitet, dass erstens der Zusatz des Osmolyten eine im Vergleich zum osmotischen Druck des Xylemsaftes geringe Änderung des osmotischen Druckes im Medium hervorruft, zweitens die Geschwindigkeit der radialen Permeation des Osmolyten im Vergleich mit derjenigen des Volumenflusses vernachlässigbar ist und drittens der osmotische Druck des Mediums im Vergleich mit dem osmotischen Druck des Xylemsaftes relativ klein ist.

11. Wenige Sekunden nach Zugabe von KNO_3 in einer Konzentration von 1,5 mM zum nitratfreien Medium von Maiswurzeln, deren Nitrataufnahmesystem durch Kultur auf einem nitrathaltigen Medium induziert wurde, wird die anfängliche osmotisch bedingte Volumenflusshemmung bereits von einer starken Förderung des Teilchenflusses auf dem protoplastischen Weg überlagert. Die hierdurch bedingte Steigerung des Volumenflusses übersteigt die anfängliche osmotisch bedingte Hemmung nach kurzer Zeit um ein Mehrfaches. Die Stimulation des Teilchenflusses durch Nitratzugabe ist für das Anion spezifisch. Dies und die hohen Exsudationsgeschwindigkeiten im kaliumfreien Wurzelmedium beruhen darauf, dass Kalium aus den Kompartimenten des Wurzelsymlasten in die Xylemgefäße transloziert werden kann. Dass der Stimulationseffekt nicht oder nicht deutlich nachweisbar war, wenn KNO_3 zu einem bereits nitrathaltigen Medium zugegeben wurde, beruht auf der Sättigungskinetik des Nitrat-Protonen-Symporters. Das Fehlen des Stimulationseffektes bei Wurzeln, die längere Zeit ohne Nitrat gehalten wurden, kann mit einem relativ schnellen *turnover* von mindestens einem der induzierbaren Transporter erklärt werden.
12. Die kortikalen Interzellularräume der feinen Seitenwurzeln von Schilf und anderen Heliophyten bilden axiale Kanäle. Sie sind bei sehr feinen Seitenwurzeln, welche sich unter oxischen Bedingungen entwickeln, gänzlich oder zum überwiegenden Teil mit Flüssigkeit gefüllt. Die Flüssigkeitsfüllung der Interzellularräume bedingt, dass die Feinwurzeln auch *in situ* im Durchlicht transparent erscheinen und nach dem Abtrennen im Wachstumsmedium absinken. Die kortikalen Interzellularräume der Feinwurzeln von Mais bilden ebenfalls axiale Kanäle; sie sind unter physiologischen Bedingungen stets mit Gas gefüllt. Die Füllung der Interzellularräume feiner Wurzeln mit apoplastischer Flüssigkeit kann dadurch erklärt werden, dass die Resorption des Wassers aus dem Apoplasten durch den osmotischen Druck gelöster Substanzen in der apoplastischen Flüssigkeit erschwert wird.
13. Die Epidermis-/Hypodermisbarriere der Feinwurzeln von Schilf und Mais hat die Eigenschaften einer semipermeablen Membran, in der Konzentrationsgradienten gelöster Stoffe einen Volumenfluss erzeugen. Nach der Überführung abgetrennter Feinwurzeln des Schilfes oder artifiziell infiltrierter Feinwurzeln von Mais in ein Medium mit verändertem osmotischem Druck kommt es zu einem axialen Fluss der Interzellularflüssigkeit. Ursächlich hierfür ist transzelluläre Osmose durch die Epidermis-/Hypodermis-Barriere. Eine messbare dauerhafte Exsudation aus den kortikalen Inter-

zellularen findet bei den Feinwurzeln von Mais im Unterschied zu denen des Schilfes nicht statt. Isolierte Feinwurzeln der Schilfpflanzen zeigen auch dann einen andauernden Volumenfluss aus den Interzellularkanälen des Kortex, wenn sie in ihrem brackigen Wachstumsmedium inkubiert werden. Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen kann darin bestehen, dass Xylemsaftbestandteile aus der Stele durch die Endodermis in den kortikalen Apoplasten austreten oder dass der Symplast Osmolyte in den kortikalen Apoplasten sekretiert.

14. Wird eine Maiswurzel an einen Fluss-Sensor angeschlossen und osmotisch eine Flussumkehr induziert, ist das an das Medium abgegebene Volumen größer als das in das Xylem zurückfließende Xylemsaftvolumen. Aus der Differenz kann der Volumenelastizitätsmodulus des Wurzelgewebes abgeschätzt werden, er liegt bei etwa 600 bar.
15. Auf Grund des geringen Durchmessers der Stele und des geringen Volumenanteils des stelaren Apoplasten erreicht die NaCl-Konzentration im Xylemsaft exsudierender feiner Seitenwurzeln von halmbürtigen Adventivwurzeln des Schilfs durch Diffusion im Apoplasten die Größenordnung derjenigen des Mediums, wenn die Pflanzen in Brackwasser stehen. Auf diese Weise wird der Wasserpotenzialgradient zwischen dem brackigen Medium und dem Xylemsaft reduziert und die Wasseraufnahme erleichtert.
16. Auf Grund des Fehlens von echtem *solvent drag* bei der hydrostatisch getriebenen Wasseraufnahme kommt es bei starken Volumenflüssen zu einer starken Verdünnung von NaCl im Xylemsaft der Adventivwurzeln des Schilfes im Vergleich zum Brackwassermedium. Auf diese Weise wird bei starker Transpiration eine Überlastung des Xylem-Entsalzungsmechanismus in den basalen Internodien vermieden.
17. An Brackwasserstandorten haben Schilfhalme die Fähigkeit, nicht nur Natriumionen, sondern auch Chloridionen im Halm und an der Halmbasis aus dem Xylemsaft in den Symplasten zu überführen, in den Vakuolen zu speichern und mit dem Phloem in die submersen Teile der Pflanze zu verlagern. Letzteres könnte eine Netto-Salzabgabe aus dem Wurzel-Symplasten an das Medium ermöglichen, aber auch für die Turgor-Regulation der submersen Organe bedeutsam sein. Auf Grund der starken Abnahme der osmotischen Komponente des Wasserpotenzials beim Aufsteigen des Xylemsaftes in den basalen Internodien des Halmes wird in den wachsenden und assimilierenden Blättern der Einfluss des Brackwassers auf das Wasserpotenzial reduziert.

Literaturverzeichnis

- Aloni, R.; Enstone, D. E. und Peterson, C. A. (1998): Indirect evidence for bulk water flow in root cortical cell walls of three dicotyledonous species, *Planta* 207 [1], Seite 1-7.
- Anderson, W. P.; Aikman, D. P. und Meiri, A. (1970): Excised root exudation - A standing-gradient osmotic flow, *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 174 [1037], Seite 445-458.
- Armstrong, J. und Armstrong, W. (1988): *Phragmites australis* - a preliminary-study of soil-oxidizing sites and internal gas-transport pathways, *New Phytologist* 108 [4], Seite 373-382.
- Armstrong, J. und Armstrong, W. (2001): Rice and *Phragmites*: Effects of organic acids on growth, root permeability, and radial oxygen loss to the rhizosphere, *American Journal of Botany* 88 [8], Seite 1359-1370.
- Armstrong, J.; Armstrong, W. und Beckett, P. M. (1992): *Phragmites australis* - venturi-induced and humidity-induced pressure flows enhance rhizome aeration and rhizosphere oxidation, *New Phytologist* 120 [2], Seite 197-207.
- Arisz, W. H.; Helder, R. J. und van Nie, R. (1951): Analysis of the exudation process in tomato plants, *Journal of Experimental Botany* 2 [6], Seite 257-297.
- Baldantoni, D.; Ligrone, R. und Alfani, A. (2009): Macro- and trace-element concentrations in leaves and roots of *Phragmites australis* in a volcanic lake in southern Italy, *Journal of Geochemical Exploration* 101 [2], Seite 166-174.
- Bange, G. G. J. (1973): Diffusion and absorption of ions in plant-tissue. 3. Role of root cortex cells in ion absorption, *Acta Botanica Neerlandica* 22 [5], Seite 529-542.
- Bangerth, F. (1979): Calcium-related physiological disorders of plants, *Annual Review of Phytopathology* 17, Seite 97-122.
- Barrieu, F.; Chaumont, F. und Chrispeels, M. J. (1998): High expression of the tonoplast aquaporin ZmTip1 in epidermal and conducting tissues of maize, *Plant Physiology* 117 [4], Seite 1153-1163.
- Barry, P. H. und Diamond, J. M. (1984): Effects of unstirred layers on membrane phenomena, *Physiological Reviews* 64 [3], Seite 763-872.
- Bellaire, A. (1998) Ionenverhältnisse in den Presssäften verschiedener Organe der Schilfpflanzen von Süß- und Brackwasserstandorten unter besonderer Berücksichtigung der Kationen-zirkulation, Wissenschaftliche Hausarbeit eingereicht an der Humboldt Universität zu Berlin. Mathematisch Naturwissenschaftliche Fakultät I.
- Blackman, V. H. (1921): Osmotic pressure, root pressure, and exudation, *New Phytologist* 20 [3], Seite 106-115.
- Blumwald, E. und Poole, R. J. (1985): Na⁺/H⁺ antiport in isolated tonoplast vesicles from storage tissue of *Beta-vulgaris*, *Plant Physiology* 78 [1], Seite 163-167.

- Bowling, D. J. F.; Watson, B. T. und Ehwald, R. (1985): The effect of phloem ringing on root-growth and potassium uptake by *Helianthus annuus*, *Journal of Experimental Botany* 36 [163], Seite 290-297.
- Boyer, J. S. (1985): Water transport, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 36 [1], Seite 473-516.
- Bramley, H.; Turner, N. C.; Turner, D. W. und Tyerman, S. D. (2007): Comparison between gradient-dependent hydraulic conductivities of roots using the root pressure probe: The role of pressure propagations and implications for the relative roles of parallel radial pathways, *Plant Cell and Environment* 30 [7], Seite 861-874.
- Brauner, L. (1956): Die Permeabilität der Zellwand., Ruhland, W., *Handbuch der Pflanzenphysiologie II Allgemeine Physiologie der Pflanzenzelle* Seite 337-356, Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- Briggs, G. E. und Robertson, R. N. (1957): Apparent free space, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 8, Seite 11-30.
- Brown, A. D. und Simpson, J. R. (1972): Water relations of sugar-tolerant yeasts - role of intracellular polyols, *Journal of General Microbiology* 72, Seite 589-591.
- Broyer, T. C. (1947a): The movement of materials into plants.1. Osmosis and the movement of water into plants, *Botanical Review* 13 [1], Seite 1-58.
- Broyer, T. C. (1947b): The movement of materials into plants .2. The nature of solute movement into plants, *Botanical Review* 13 [3], Seite 125-167.
- Carpita, N.; Sabulase, D.; Montezinos, D. und Delmer, D. P. (1979): Determination of the pore size of cell walls of living plant cells, *Science* 205 [4411], Seite 1144-1147.
- Cheeseman, J. M. (1988): Mechanisms of salinity tolerance in plants, *Plant Physiology* 87 [3], Seite 547-550.
- Childs, C. E. (1975): Determination of polyethylene-glycol in gamma-globulin solutions, *Microchemical Journal* 20 [2], Seite 190-192.
- Clarkson, D. T. (1993): Roots and the delivery of solutes to the xylem, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 341 [1295], Seite 5-17.
- Crafts, A. S. und Broyer, T. C. (1938): Migration of salts and water into xylem of the roots of higher plants, *American Journal of Botany* 25 [7], Seite 529-535.
- Crowdy, S. H. und Tanton, T. W. (1970): Water pathways in higher plants: I. Free space in wheat leaves, *Journal of Experimental Botany* 21 [1], Seite 102-111.
- De Rufz de Lavison, J. (1910): Du mode de penetration de quelques sels dans la plante vivante. Role de l'endoderme., *Revue General de Botanique* 22, Seite 225-241.
- De Rufz de Lavison, J. (1911): Recherches sur la penetration dans le protoplasme et sur la nature de leur action toxique, *Extractions des Annales des sciences naturelles Botanique* 9 [14], Seite 97-189.
- Dainty, J. und Ginzburg, B. Z. (1964): Reflection coefficient of plant cell membranes for certain solutes, *Biochimica Et Biophysica Acta* 79 [1], Seite 129-137.

- Dainty, J.; Kleinova, M. und Janacek, K. (1981): The movement of water across the plant-root, *Plant and Soil* 63 [1], Seite 11-14.
- Diamond, J. M. und Bossert, W. H. (1967): Standing-gradient osmotic flow - a mechanism for coupling of water and solute transport in epithelia, *Journal of General Physiology* 50 [8], Seite 2061-2083.
- Diamond, J. M. und Wright, E. M. (1969): Biological membranes - physical basis of ion and nonelectrolyte selectivity, *Annual Review of Physiology* 31, Seite 581-646.
- Dutrochet, M. H. (1837): Mémoires pour servir à l'histoire anatomique et physiologique des végétaux et des animaux, Bailliere, Paris.
- Eaton, F. M. (1943): The osmotic and vitalistic interpretations of exudation, *American Journal of Botany* 30 [9], Seite 663-674.
- Ehwald, R. (1984): Physikalische Grenzen der Nährstoffaufnahme durch die Wurzel, *Wissenschaftliche Zeitschrift der Humboldt Universität zu Berlin* 33 [4], Seite 328-329.
- Ehwald, R.; Dvorak, B. und Göring, H. (1973b): Anwendungsmöglichkeiten einer neuen registrierenden Methode zur kontinuierlichen Messung der Wasseraufnahme durch pflanzliche Gewebe, *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* 164, Seite 83-97.
- Ehwald, R.; Sammler, P. und Göring, H. (1973a): Die Bedeutung der Diffusion im „Freien Raum“ Für die Konzentrationsabhängigkeit der Aufnahme von Zuckern und Ionen durch pflanzliche Gewebe, *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* 174, Seite 596-613.
- Enstone, D. E.; Peterson, C. A. und Ma, F. S. (2002): Root endodermis and exodermis: Structure, function, and responses to the environment, *Journal of Plant Growth Regulation* 21 [4], Seite 335-351.
- Faiyue, B.; Vijayalakshmi, C.; Nawaz, S.; Nagato, Y.; Taketa, S.; Ichii, M.; Al-Azzawi, M. J. und Flowers, T. J. (2010): Studies on sodium bypass flow in lateral rootless mutants *lrt1* and *lrt2*, and crown rootless mutant *crl1* of rice (*Oryza sativa* L.), *Plant Cell and Environment* 33 [5], Seite 687-701.
- Flowers, T. J.; Troke, P. F. und Yeo, A. R. (1977): Mechanism of salt tolerance in halophytes, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 28, Seite 89-121.
- Fleischer, A. und Ehwald, R. (1995): The free-space of sugars in plant-tissues - external film and apoplastic volume, *Journal of Experimental Botany* 46 [287], Seite 647-654.
- Frensch, J. und Hsiao, T. C. (1993): Hydraulic propagation of pressure along immature and mature xylem vessels of roots of *Zea mays* measured by pressure-probe techniques, *Planta* 190 [2], Seite 263-270.
- Frensch, J. und Steudle, E. (1989): Axial and radial hydraulic resistance to roots of maize (*Zea-mays*-L.), *Plant Physiology* 91 [2], Seite 719-726.
- Freundl, E.; Steudle, E. und Hartung, W. (2000): Apoplastic transport of abscisic acid through roots of maize: Effect of the exodermis, *Planta* 210 [2], Seite 222-231.
- Fritz, M., Ehwald, R. (2011): Mannitol permeation and radial flow of water in maize roots, *New Phytologist* 189, Seite 210-217.

- Fritz, M.; Lorenzen, S.; Popova, M. und Ehwald, R. (2010): Transient and permanent changes of xylem sap exudation by root systems of *Zea mays* after application of hydrostatic and osmotic forces, *Functional Plant Biology* 37 [9], Seite 813-827.
- Ginsburg, H. und Ginzburg, B. Z. (1970a): Radial water and solute flows in roots of *Zea mays*: I. Water flow, *Journal of Experimental Botany* 21 [3], Seite 580-592.
- Ginsburg, H. und Ginzburg, B. Z. (1970b): Radial water and solute flows in roots of *Zea mays*: II. Ion fluxes across root cortex, *Journal of Experimental Botany* 21 [3], Seite 593-604.
- Ginsburg, H. und Ginzburg, B. Z. (1971): Evidence for active water transport in a corn root preparation, *Journal of Membrane Biology* 4 [1], Seite 29-41.
- Glass, A. D. M.; Britto, D. T.; Kaiser, B. N.; Kinghorn, J. R.; Kronzucker, H. J.; Kumar, A.; Okamoto, M.; Rawat, S.; Siddiqi, M. Y.; Unkles, S. E. und Vidmar, J. J. (2002): The regulation of nitrate and ammonium transport systems in plants, *Journal of Experimental Botany* 53 [370], Seite 855-864.
- Glaser, R. (1996): *Biophysik 4*, UTB für Wissenschaft Gustav Fischer, Stuttgart, ISBN: 3825281167.
- Göring, H. und Gerlach, I. (1966): Growth rate of plant tissues isolated for a short period with regard to its dependence on quality and quantity of carbon sources, *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 55 [5], Seite 429-435.
- Göring, H.; Ehwald, R. und Sammler, P. (1974): Bestimmung des „Freien Raumes“ pflanzlicher Gewebe und seine Bedeutung für die Stoffaufnahme., *Archiv für Acker- und Pflanzenbau u. Bodenkunde* 18, Seite 223-232.
- Granath, K. A. (1958): Solution properties of branched dextrans, *Journal of Colloid Science* 13 [4], Seite 308-328.
- Grunwaldt, G.; Ehwald, R.; Pietzsch, W. und Göring, H. (1979): Special role of the rhizodermis in nutrient-uptake by plant-roots, *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* 174 [9], Seite 831-837.
- Hachez, C.; Moshelion, M.; Zelazny, E.; Cavez, D. und Chaumont, F. (2006): Localization and quantification of plasma membrane aquaporin expression in maize primary root: A clue to understanding their role as cellular plumbers, *Plant Molecular Biology* 62 [1-2], Seite 305-323.
- Hayter, M. L. und Peterson, C. A. (2004): Can Ca^{2+} fluxes to the root xylem be sustained by Ca^{2+} -ATPases in exodermal and endodermal plasma membranes?, *Plant Physiology* 136 [4], Seite 4318-4325.
- Hales, S. (1727): *Vegetable staticks, or, An account of some statical experiments on the sap in vegetables: being an essay towards a natural history of vegetation: also, a specimen of an attempt to analyse the air, by a great variety of chymio-statical experiments; which were read at several meetings before the Royal Society*, Innys. J. Woodward, T., London.
- Henry, R. J.; Blakeney, A. B.; Harris, P. J. und Stone, B. A. (1983): Detection of neutral and aminosugars from glycoproteins and polysaccharides as their alditol acetates, *Journal of Chromatography* 256 [3], Seite 419-427.
- Heyl, J. G. (1933): Der Einfluss von Aussenfaktoren auf das Bluten der Pflanzen, *Planta* 20 [2], Seite 294-353.

- Hirschi, K. (2001): Vacuolar H⁺/Ca²⁺ transport: Who's directing the traffic?, Trends in Plant Science 6 [3], Seite 100-104.
- Hoagland, D. R. und Broyer, T. C. (1936): General nature of the process of salt accumulation by roots with description of experimental methods, Plant Physiology 11 [3], Seite 471-507.
- Hose, E.; Clarkson, D. T.; Steudle, E.; Schreiber, L. und Hartung, W. (2001): The exodermis: A variable apoplastic barrier, Journal of Experimental Botany 52 [365], Seite 2245-2264.
- House, C. R. und Findlay, N. (1966a): Mechanism of fluid exudation from isolated maize roots, Nature 211 [5049], Seite 649-650.
- House, C. R. und Findlay, N. (1966b): Water transport in isolated maize roots, Journal of Experimental Botany 17 [51], Seite 344-354.
- Javot, H. und Maurel, C. (2002): The role of aquaporins in root water uptake, Annals of Botany 90 [3], Seite 301-313.
- Jeschke, W. D. (1977a): K⁺-Na⁺ exchange and selectivity in barley root-cells - effect of Na⁺ on Na⁺ fluxes, Journal of Experimental Botany 28 [107], Seite 1289-1306.
- Jeschke, W. D. (1977b): K⁺-Na⁺ exchange and selectivity in barley root-cells effects of K⁺, Rb⁺, Cs⁺, and Li⁺ on Na⁺ fluxes, Zeitschrift für Pflanzenphysiologie 84 [3], Seite 247-264.
- Jeschke, W. D.; Stelter, W.; Reising, B. und Behl, R. (1983): Vacuolar Na/K exchange, its occurrence in root-cells of Hordeum, Atriplex and Zea and its significance for K/Na discrimination in roots, Journal of Experimental Botany 34 [145], Seite 964-979.
- Jones, H.; Tomos, A. D.; Leigh, R. A. und Wyn Jones, R. G. (1983): Water-relation parameters of epidermal and cortical cells in the primary root of Triticum aestivum L., Planta 158 [3], Seite 230-236.
- Kamiya, N.; Tazawa, M. und Takata, T. (1962): Water permeability of the cell wall in Nitella, Plant and Cell Physiology 3 [3], Seite 285-292.
- Kanai, M.; Higuchi, K.; Hagihara, T.; Konishi, T.; Ishii, T.; Fujita, N.; Nakamura, Y.; Maeda, Y.; Yoshida, M. und Tadano, T. (2007): Common reed produces starch granules at the shoot base in response to salt stress, New Phytologist 176 [3], Seite 572-580.
- Kedem, O. und Katchalsky, A. (1958): Thermodynamic analysis of the permeability of biological membranes to non-electrolytes, Biochimica Et Biophysica Acta 27 [2], Seite 229-246.
- Kedem, O. und Katchalsky, A. (1963): Permeability of composite membranes .1. Electric current, volume flow and flow of solute through membranes, Transactions of the Faraday Society 59 [488], Seite 1918-1930.
- Klepper, B. (1967): Effects of osmotic pressure on exudation from corn roots, Australian Journal of Biological Sciences 20 [4], Seite 723-735.
- Knipfer, T. und Fricke, W. (2010): Root pressure and a solute reflection coefficient close to unity exclude a purely apoplastic pathway of radial water transport in barley (Hordeum vulgare), New Phytologist 187 [1], Seite 159-170.

- Knipfer, T. und Steudle, E. (2008): Root hydraulic conductivity measured by pressure clamp is substantially affected by internal unstirred layers, *Journal of Experimental Botany* 59 [8], Seite 2071-2084.
- Knipfer, T.; Das, D. und Steudle, E. (2007): During measurements of root hydraulics with pressure probes, the contribution of unstirred layers is minimized in the pressure relaxation mode: Comparison with pressure clamp and high-pressure flowmeter, *Plant Cell and Environment* 30 [7], Seite 845-860.
- Kochian, L. V. und Lucas, W. J. (1983): Potassium-transport in corn roots .2. The significance of the root periphery, *Plant Physiology* 73 [2], Seite 208-215.
- Kotyk, A. und Janacek, K. (1977): *Membrane Transport An interdisciplinary approach*, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prag, ISBN: 509-21-857.
- Kremer, B. P. (2002): *Das große Kosmos-Buch der Mikroskopie*, Franck-Kosmos-Verlags-GmbH & Co., Stuttgart, ISBN: 3-44008989-4.
- Krishnamurthy, P.; Ranathunge, K.; Franke, R.; Prakash, H. S.; Schreiber, L. und Mathew, M. K. (2009): The role of root apoplastic transport barriers in salt tolerance of rice (*Oryza sativa* L.), *Planta* 230 [1], Seite 119-134.
- Kuhn, A. J.; Schroder, W. H. und Bauch, J. (2000): The kinetics of calcium and magnesium entry into mycorrhizal spruce roots, *Planta* 210 [3], Seite 488-496.
- Laties, G. G. und Budd, K. (1964): Development of differential permeability in isolated steles of corn roots, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 52 [2], Seite 462-469.
- Läuchli, A.; James, R. A.; Huang, C. X.; McCully, M. und Munns, R. (2008): Cell-specific localization of Na⁺ in roots of durum wheat and possible control points for salt exclusion, *Plant Cell and Environment* 31 [11], Seite 1565-1574.
- Lawlor, D. W. (1970): Absorption of polyethylene glycols by plants and their effects on plant growth, *New Phytologist* 69 [2], Seite 501-513.
- Lessani, H. und Marschner, H. (1978): Relation between salt tolerance and long-distance transport of sodium and chloride in various crop species, *Australian Journal of Plant Physiology* 5 [1], Seite 27-37.
- Lide, D. R. (2004): *CRC textbook of chemistry and physics*, 85. Auflage, Lide, D.R., CRC Press, Boca Raton, ISBN: 0-8493-0485-7.
- Liese, W. und Bauch, J. (1964): Über die Wegsamkeit der Hoftüpfel von Coniferen, *Naturwissenschaften* 51 [21], Seite 516.
- Liese, W. und Johann, I. (1954): Experimentelle Untersuchungen über die Feinstruktur der Hoftüpfel bei den Koniferen, *Naturwissenschaften* 41 [24], Seite 579.
- Liu, B. B.; Steudle, E.; Deng, X. P. und Zhang, S. Q. (2009): Root pressure probe can be used to measure the hydraulic properties of whole root systems of corn (*Zea mays* L.), *Botanical Studies* 50 [3], Seite 303-310.

- Lohaus, G.; Hussmann, M.; Pennewiss, K.; Schneider, H.; Zhu, J. J. und Sattelmacher, B. (2000): Solute balance of a maize (*Zea mays* L.) source leaf as affected by salt treatment with special emphasis on phloem retranslocation and ion leaching, *Journal of Experimental Botany* 51 [351], Seite 1721-1732.
- Magnani, F.; Centritto, M. und Grace, J. (1996): Measurement of apoplastic and cell-to-cell components of root hydraulic conductance by a pressure-clamp technique, *Planta* 199 [2], Seite 296-306.
- Makihara, D.; Hirari, Y.; Tschuiya, M. und Tsuda, M. (1998): Reduction in Top Na Content by Sodium Exclusion in Rice Root, *Japanese Journal of Crop Science* 67 [1], Seite 98-99.
- Marschner, H.; Kirkby, E. A.; Engels, C. (1997): Importance of cycling and recycling of mineral nutrients within plants for growth and development. *Botanica Acta* 110 [4], Seite 265-273.
- Martinez-Ballesta, M. D. C.; Silva, C.; Lopez-Berenguer, C.; Cabanero, F. J. und Carvajal, M. (2006): Plant aquaporins: New perspectives on water and nutrient uptake in saline environment, *Plant Biology* 8 [5], Seite 535-546.
- Matoh, T.; Matsushita, N. und Takahashi, E. (1988): Salt tolerance of the reed plant *Phragmites communis*, *Physiologia Plantarum* 72 [1], Seite 8-14.
- Matsushita, N. und Matoh, T. (1991): Characterization of Na⁺ exclusion mechanisms of salt-tolerant reed plants in comparison with salt-sensitive rice plants, *Physiologia Plantarum* 83 [1], Seite 170-176.
- Matsushita, N. und Matoh, T. (1992): Function of the shoot base of salt-tolerant reed (*Phragmites communis* Trinius) plants for Na⁺ exclusion from the shoots, *Soil Science and Plant Nutrition* 38 [3], Seite 565-571.
- Maurel, C. (1997): Aquaporins and water permeability of plant membranes, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48, Seite 399-429.
- Mees, G. C. und Weatherley, P. E. (1957): The mechanism of water absorption by roots .1. Preliminary studies on the effects of hydrostatic pressure gradients, *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 147 [928], Seite 367-380.
- Melchior, W. und Steudle, E. (1993): Water transport in onion (*Allium cepa* L.) roots - changes of axial and radial hydraulic conductivities during root development, *Plant Physiology* 101 [4], Seite 1305-1315.
- Meyer, C. J.; Peterson, C. A. und Steudle, E. (2011): Permeability of *Iris germanica*'s multiseriate exodermis to water, NaCl, and Ethanol, *Journal of Experimental Botany* 62 [6], Seite 1911-1926.
- Michael, W. und Ehwald, R. (1996): Exchange diffusion of alkali ions through the apoplast of the potato (*Solanum tuberosum* L.) storage parenchyma, *Plant Cell and Environment* 19 [2], Seite 243-246.
- Michael, W.; Cholodova, V. P. und Ehwald, R. (1999): Gas and liquids in intercellular spaces of maize roots, *Annals of Botany* 84 [5], Seite 665-673.
- Michael, W.; Schultz, A.; Meshcheryakov, A. B. und Ehwald, R. (1997): Apoplastic and protoplasmic water transport through the parenchyma of the potato storage organ, *Plant Physiology* 115 [3], Seite 1089-1099.
- Miller, D. M. (1981): Studies of root function in *Zea mays* .2. Dimensions of the root-system, *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 59 [5], Seite 811-818.

- Miller, D. M. (1985): Studies of root function in *Zea mays* .3. Xylem sap composition at maximum root pressure provides evidence of active-transport into the xylem and a measurement of the reflection coefficient of the root, *Plant Physiology* 77 [1], Seite 162-167.
- Miller, D. M. (1987): Errors in the Measurement of Root Pressure and Exudation Volume flow-rate caused by damage during the transfer of unsupported roots between solutions, *Plant Physiology* 85 [1], Seite 164-166.
- Munns, R. (1985): Na⁺, K⁺ and Cl⁻ in xylem sap flowing to shoots of NaCl-treated barley, *Journal of Experimental Botany* 36 [7], Seite 1032-1042.
- Munns, R.; Fisher, D. B. und Tonnet, M. L. (1986): Na⁺ and Cl⁻ transport in the phloem from leaves of NaCl-treated barley, *Australian Journal of Plant Physiology* 13 [6], Seite 757-766.
- Munns, R.; Lorraine Tonnet, M.; Shennan, C. und Anne Gardner, P. (1988): Effect of high external NaCl concentration on ion transport within the shoot of *Lupinus albus*. II. Ions in phloem sap, *Plant, Cell & Environment* 11 [4], Seite 291-300.
- Naito, H.; Tschuiya, M. und Kumano, S. (1994): Physiological response to salinity in rice plant : II. Relationship of sodium exclusion to transpiration and root-respiration rates in NaCl-treated rice plant, *Japanese Journal of Crop Science* 63 [2], Seite 320-325.
- Newman, E. I. (1976): Water movement through root systems, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 273 [927], Seite 463-478.
- Nobel, P. S. (1973): Mitochondrial permeability for alcohols, aldoses, and amino-acids, *Journal of Membrane Biology* 12 [3], Seite 287-299.
- Ochiai, K. und Matoh, T. (2002): Characterization of the Na⁺ delivery from roots to shoots in rice under saline stress: Excessive salt enhances apoplastic transport in rice plants, *Soil Science and Plant Nutrition* 48 [3], Seite 371-378.
- Ochiai, K. und Matoh, T. (2004): Alleviation of salinity damage to rice plants by the use of polyethylene glycols (PEGs) through reduction of Na⁺ transport to shoots, *Soil Science and Plant Nutrition* 50 [1], Seite 129-133.
- Onsager, L. (1931): Reciprocal relations in irreversible processes. II, *Physical Review* 38 [12], Seite 2265-2279.
- Overbeek, J. (1942): Water uptake by excised root systems of the tomato due to non-osmotic forces, *American Journal of Botany* 29 [8], Seite 677-683.
- Perry, M. W. und Greenway, H. (1973): Permeation of uncharged organic-molecules and water through tomato roots, *Annals of Botany* 37 [149], Seite 225-232.
- Peterson, C. A. und Steudle, E. (1993): Lateral hydraulic conductivity of early metaxylem vessels in *Zea mays* L. roots, *Planta* 189 [2], Seite 288-297.
- Peterson, C. A.; Emanuel, M. E. und Humphreys, G. B. (1981): Pathway of movement of apoplastic fluorescent dye tracers through the endodermis at the site of secondary root-formation in corn (*Zea*

- mays) and broad bean (*Vicia faba*), Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique 59 [5], Seite 618-625.
- Peterson, C. A.; Murrmann, M. und Steudle, E. (1993): Location of the major barriers to water and ion movement in young roots of *Zea mays* L., *Planta* 190 [1], Seite 127-136.
- Pierret, A.; Moran, C. J. und Doussan, C. (2005): Conventional detection methodology is limiting our ability to understand the roles and functions of fine roots, *New Phytologist* 166 [3], Seite 967-980.
- Pitman, M. G. (1977): Ion-transport into xylem, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 28, Seite 71-88.
- Pitman, M. G. (1982): Transport across plant-roots, *Quarterly Reviews of Biophysics* 15 [3], Seite 481-554.
- Pitman, M. G.; Wellfare, D. und Carter, C. (1981): Reduction of hydraulic conductivity during inhibition of exudation from excised maize and barley roots, *Plant Physiology* 67 [4], Seite 802-808.
- Pittermann, J. (2010): The evolution of water transport in plants: an integrated approach, *Geobiology* 8 [2], Seite 112-139.
- Powell, D. B. B. (1978): Regulation of plant water potential by membranes of the endodermis in young roots, *Plant, Cell and Environment* 1 [1], Seite 69-76.
- Priestley, J. H. (1920): The mechanism of root pressure, *New Phytologist* 19 [7-8], Seite 189-199.
- Priestley, J. H. (1922): Further observations upon the mechanism of root pressure, *New Phytologist* 21 [1], Seite 41-47.
- Ray, P. M. (1960): On the theory of osmotic water movement, *Plant Physiology* 35 [6], Seite 783-795.
- Reinhardt, D. H. und Rost, T. L. (1995): Salinity accelerates endodermal development and induces an exodermis in cotton seedling roots, *Environmental and Experimental Botany* 35 [4], Seite 563-574.
- Richter, E. und Ehwald, R. (1983): Apoplastic mobility of sucrose in storage parenchyma of sugar-beet, *Physiologia Plantarum* 58 [3], Seite 263-268.
- Robinson, S. P. und Jones, G. P. (1986): Accumulation of glycinebetaine in chloroplasts provides osmotic adjustment during salt stress, *Australian Journal of Plant Physiology* 13 [5], Seite 659-668.
- Rüdinger, M.; Hallgren, S. W.; Steudle, E. und Schulze, E. D. (1994): Hydraulic and osmotic properties of spruce roots, *Journal of Experimental Botany* 45 [279], Seite 1413-1425.
- Sabinin, D. A. (1925): On the root system as an osmotic apparatus., *Bull. Inst. Rech. Biol. Univ. Perm* 4, Seite 1-136.
- Salim, M. und Pitman, M. G. (1984): Pressure-induced water and solute flow through plant-roots, *Journal of Experimental Botany* 35 [155], Seite 869-881.
- Sanderson, J. (1983): Water-uptake by different regions of the barley root - pathways of radial flow in relation to development of the endodermis, *Journal of Experimental Botany* 34 [140], Seite 240-253.
- Saqib, M.; Zorb, C.; Rengel, Z. und Schubert, S. (2005): The expression of the endogenous vacuolar Na⁺/H⁺ antiporters in roots and shoots correlates positively with the salt resistance of wheat (*Triticum aestivum* L.), *Plant Science* 169 [5], Seite 959-965.

- Shane, M. W.; McCully, M. E. und Canny, M. J. (2000): Architecture of branch-root junctions in maize: Structure of the connecting xylem and the porosity of pit membranes, *Annals of Botany* 85 [5], Seite 613-624.
- Sheveleva, E.; Chmara, W.; Bohnert, H. J. und Jensen, R. G. (1997): Increased salt and drought tolerance by d-Ononitol production in transgenic *Nicotiana tabacum* L., *Plant Physiology* 115 [3], Seite 1211-1219.
- Soukup, A.; Votrubova, O. und Cizkova, H. (2002): Development of anatomical structure of roots of *Phragmites australis*, *New Phytologist* 153 [2], Seite 277-287.
- Soukup, A.; Armstrong, W.; Schreiber, L.; Franke, R. und Votrubova, O. (2007): Apoplastic barriers to radial oxygen loss and solute penetration: A chemical and functional comparison of the exodermis of two wetland species, *Phragmites australis* and *Glyceria maxima*, *New Phytologist* 173 [2], Seite 264-278.
- Staverman, A. J. (1951): The theory of measurement of osmotic pressure, *Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas-Journal of the Royal Netherlands Chemical Society* 70 [4], Seite 344-352.
- Steudle, E. (1989): Water flow in plants and its coupling to other processes: An overview, S. Fleischer, B. Fleischer, *Methods of enzymology* 174 Seite 183-225, Academic Press New York, New York.
- Steudle, E. (1993): Pressure probe techniques: Basic principles and application to studies of water and solute relations at the cell, tissue and organ level, J.A.C. Smith, H. Griffiths, *Water deficits: Plant responses to community* Seite 5-36, Bios Publishers Ltd., Oxford.
- Steudle, E. (2000): Water uptake by plant roots: An integration of views, *Plant and Soil* 226 [1], Seite 45-56.
- Steudle, E. und Brinckmann, E. (1989): The osmometer model of the root - water and solute relations of roots of *Phaseolus coccineus*, *Botanica Acta* 102 [1], Seite 85-95.
- Steudle, E. und Frensch, J. (1989): Osmotic responses of maize roots - water and solute relations, *Planta* 177 [3], Seite 281-295.
- Steudle, E. und Frensch, J. (1996): Water transport in plants: Role of the apoplast, *Plant and Soil* 187 [1], Seite 67-79.
- Steudle, E. und Heydt, H. (1997): Water transport across tree roots, *Trees - Contributions to Modern Tree Physiology*, Seite 239-255.
- Steudle, E. und Jeschke, W. D. (1983): Water transport in barley roots - measurements of root pressure and hydraulic conductivity of roots in parallel with turgor and hydraulic conductivity of root-cells, *Planta* 158 [3], Seite 237-248.
- Steudle, E. und Meshcheryakov, A. B. (1996): Hydraulic and osmotic properties of oak roots, *Journal of Experimental Botany* 47 [296], Seite 387-401.
- Steudle, E. und Peterson, C. A. (1998): How does water get through roots?, *Journal of Experimental Botany* 49 [322], Seite 775-788.
- Steudle, E. und Tyerman, S. D. (1983): Determination of permeability coefficients, reflection coefficients, and hydraulic conductivity of *Chara corallina* using the pressure probe - effects of solute concentrations, *Journal of Membrane Biology* 75 [1], Seite 85-96.

- Steudle, E. und Zimmermann, U. (1974): Determination of hydraulic conductivity and of reflection coefficients in *Nitella flexilis* by means of direct cell-turgor pressure measurements, *Biochimica Et Biophysica Acta* 332 [3], Seite 399-412.
- Steudle, E.; Murrmann, M. und Peterson, C. A. (1993): Transport of water and solutes across maize roots modified by puncturing the endodermis - further evidence for the composite transport model of the root, *Plant Physiology* 103 [2], Seite 335-349.
- Steudle, E.; Oren, R. und Schulze, E. D. (1987): Water transport in maize roots - measurement of hydraulic conductivity, solute permeability, and of reflection coefficients of excised roots using the root pressure probe, *Plant Physiology* 84 [4], Seite 1220-1232.
- Sze, H.; Liang, F.; Hwang, I.; Curran, A. C. und Harper, J. F. (2000): Diversity and regulation of plant Ca^{2+} pumps: Insights from expression in yeast, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51 [1], Seite 433-462.
- Takahashi, R.; Nishio, T.; Ichizen, N. und Takano, T. (2007): Salt-tolerant reed plants contain lower Na^{+} and higher K^{+} than salt-sensitive reed plants, *Acta Physiologiae Plantarum* 29 [5], Seite 431-438.
- Tsuchiya, M. (1996): Root ion exclusion and salt tolerance in rice plant, *Japanese Journal of Crop Science* 65 [1], Seite 290-295.
- Tsuchiya, M.; Naito, H. und Takagi, Y. (1993): Salt exclusion rate in rice roots in relation to ion species, Okamaya, Okayama University, Seite 17-23, Scientific reports of the Faculty of Agriculture.
- Tsuchiya, M.; Miyake, M. und Naito, H. (1994): Physiological response to salinity in rice plant : III. A possible mechanism for Na^{+} exclusion in rice root under NaCl -stress conditions, *Japanese Journal of Crop Science* 63 [2], Seite 326-332.
- Tsuchiya, M.; Philbert, B. und Kumano, S. (1995b): Physiological response to salinity in rice plant : V. Varietal difference in ion exclusion of root exposed to NaCl stress under different hydraulic pressures, *Japanese Journal of Crop Science* 64 [1], Seite 102-108.
- Tsuchiya, M.; Naito, H.; Ehara, H. und Ogo, T. (1992): Physiological response to salinity in rice plant : I. Relationship between Na^{+} uptake and transpiration under different humidity and salinity conditions, *Japanese Journal of Crop Science* 61 [1], Seite 16-21.
- Tsuchiya, M.; Miyake, M.; Bonilla, P. und Kumano, S. (1995a): Physiological response to salinity in rice plant: IV. Ion-exclusion in the excised root exposed to NaCl stress with hydraulic pressure, *Japanese Journal of Crop Science* 64 [1], Seite 93-101.
- Tyree, M. T. (1968): Determination of transport constants of isolated *Nitella* cell walls, *Canadian Journal of Botany* 46 [4], Seite 317-327.
- van Andel, O. M. (1953): The influence of salts on the exudation of tomato plants, *Acta Botanica Neerlandica* 2 [4], Seite 445-521.
- van Fleet, D. (1961): Histochemistry and function of the endodermis, *The Botanical Review* 27 [2], Seite 165-220.

- Varney, G. T. und Canny, M. J. (1993): Rates of water-uptake into the mature root-system of maize plants, *New Phytologist* 123 [4], Seite 775-786.
- Varney, G. T.; McCully, M. E. und Canny, M. J. (1993): Sites of entry of water into the symplast of maize roots, *New Phytologist* 125 [4], Seite 733-741.
- Walter, H. und Kreeb, K. (1970): Die Hydratation und Hydratur des Protoplasmas der Pflanzen und ihre öko-physiologische Bedeutung. II C 6; Cytoplasma; Physik, Physikalische Chemie, Kolloidchemie; Die Hydratation und Hydratur des Protoplasmas der Pflanzen und ihre öko-physiologische Bedeutung, Alfert, M.; Bauer, H.; Harding, C.V.; Sandritter, W. und Sitte, P., *Protoplasmatologia Handbuch der Protoplasmaforschung*, Springer Verlag, Wien, New York.
- Wan, X. L. und Zwiazek, J. J. (1999): Mercuric chloride effects on root water transport in aspen seedlings, *Plant Physiology* 121 [3], Seite 939-946.
- Wang, X. L.; McCully, M. E. und Canny, M. J. (1995): Branch roots of *Zea mays*. Structural features that may influence water and nutrient transport, *Botanica Acta* 108 [3], Seite 209-219.
- Weatherley, P.E. (1976): Discussion on water relations of plants Introduction: Water movement through plants., *Philosophical Transactions of the Royal Society London B series* 273 [927], Seite 435-444.
- White, P. J. (2001): The pathways of calcium movement to the xylem, *Journal of Experimental Botany* 52 [358], Seite 891-899.
- Wiessner, A.; Kuschik, P.; Kastner, M. und Stottmeister, U. (2002): Abilities of helophyte species to release oxygen into rhizospheres with varying redox conditions in laboratory-scale hydroponic systems, *International Journal of Phytoremediation* 4 [1], Seite 1-15.
- Woehlecke, H. und Ehwald, R. (1995): Characterization of Size-Permeation Limits of Cell-Walls and Porous Separation Materials by High-Performance Size-Exclusion Chromatography, *Journal of Chromatography A* 708 [2], Seite 263-271.
- Wolf, O.; Munns, R.; Tonnet, M. L. und Jeschke, W. D. (1990): Concentrations and transport of solutes in xylem and phloem along the leaf axis of NaCl-treated *Hordeum vulgare*, *Journal of Experimental Botany* 41 [230], Seite 1133-1141.
- Wolf, O.; Munns, R.; Tonnet, M. L. und Jeschke, W. D. (1991): The role of the stem in the partitioning of Na⁺ and K⁺ in salt-treated barley, *Journal of Experimental Botany* 42 [239], Seite 697-704.
- Wright, E. M. und Diamond, J. M. (1969): Patterns of non-electrolyte permeability, *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 172 [1028], Seite 227-271.
- Yancey, P. H.; Clark, M. E.; Hand, S. C.; Bowlus, R. D. und Somero, G. N. (1982): Living with water-stress - evolution of osmolyte systems, *Science* 217 [4566], Seite 1214-1222.
- Yeo, A. R.; Yeo, M. E. und Flowers, T. J. (1987): The contribution of an apoplastic pathway to sodium uptake by rice roots in saline conditions, *Journal of Experimental Botany* 38 [192], Seite 1141-1153.
- Zhu, G. L. und Steudle, E. (1991): Water transport across maize roots - simultaneous measurement of flows at the cell and root level by double pressure probe technique, *Plant Physiology* 95 [1], Seite 305-315.

- Zhu, G. L.; Wang, X. C. und Lou, C. H. (1986): The micro drop recorder; a high resolution monitor of the bleeding rate of plant root systems, *Journal of Experimental Botany* 37 [5], Seite 676-684.
- Zimmermann, H. M. und Steudle, E. (1998): Apoplastic transport across young maize roots: Effect of the exodermis, *Planta* 206 [1], Seite 7-19.
- Zimmermann, U. und Steudle, E. (1970): Determination of reflection coefficients of membrane of algae *Valonia utricularis*, *Zeitschrift für Naturforschung Part B-Chemie Biochemie Biophysik Biologie und verwandten Gebiete B* 25 [5], Seite 500-511.
- Zimmermann, U. und Steudle, E. (1975): The hydraulic conductivity and volumetric elastic modulus of cells and isolated cell walls of *Nitella* and *Chara* spp.: Pressure and volume effects, *Functional Plant Biology* 2 [1], Seite 1-12.
- Zimmermann, H. M.; Hartmann, K.; Schreiber, L. und Steudle, E. (2000): Chemical composition of apoplastic transport barriers in relation to radial hydraulic conductivity of corn roots (*Zea mays* L.), *Planta* 210 [2], Seite 302-311.
- Zimmermann, U.; Rygol, J.; Balling, A.; Klock, G.; Metzler, A. und Haase, A. (1992): Radial turgor and osmotic-pressure profiles in intact and excised roots of *Aster tripolium* - pressure probe measurements and nuclear magnetic-resonance-imaging analysis, *Plant Physiology* 99 [1], Seite 186-196.

Veröffentlichungen

Publikationen

Fritz, M., Ehwald, R. (2011): Mannitol permeation and radial flow of water in maize roots, New Phytologist 189, Seite 210-217.

Fritz, M.; Lorenzen, S.; Popova, M. und Ehwald, R. (2010): Transient and permanent changes of xylem sap exudation by root systems of zea mays after application of hydrostatic and osmotic forces, Functional Plant Biology 37 [9], Seite 813-827.

Fritz M., Ehwald, R. (2012): Visualisation of xylem sap flow direction in isolated fine lateral roots and its use for estimating the osmotic potential of the xylem sap in such roots, Biologia Plantarum, DOI 10.1007/s10535-012-0121-3.

Fritz, M., Ehwald, R. Salt uptake by common reed (*Phragmites australis* Trin. ex. Steudel) grown in brackish habitats involves diffusion through the apoplast of the fine lateral roots without significant solvent drag. (eingereicht).

Poster

Fritz, M., Bellaire, A., Wischer, R. Ehwald R. (2005) Net salt circulation and cation exchange in the conducting bundles increase xylem water potential and prevent sodium stress in assimilating leaves of the common reed (*Phragmites australis*) growing in brackish water. XVII International Botanical Congress, Vienna

Vorträge

Fritz, M., R. Ehwald R. (2005) Net salt circulation and cation exchange in the conducting bundles increase xylem water potential and prevent sodium stress in assimilating leaves

of the common reed (*Phragmites australis*) growing in brackish water. XVII International Botanical Congress, Vienna

Fritz. M., Ehwald, R. (2007) A cortical pathway of axial water transport in fine branch roots of *Phragmites australis*. Botanikertagung, Hamburg.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe und dass ich den Text auf Grundlage dieser Hilfsmittel selbst erarbeitet selbst verfasst habe.

Michael Fritz, Berlin den 11.11.2011